



Флуоросферы для стандартизации проточного цитометра



НАЗНАЧЕНИЕ

Флуоросферы Flow-Set Pro — это суспензия флуоресцирующих микросфер, используемая в процессе стандартизации прямого рассеяния, бокового рассеяния и детекторов флуоресценции проточных цитометров Cytomics FC 500 (FL1-5), Navios и Navios EX (FL1–10).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

В проточном цитометрическом анализе размер клеток определяется в результате анализа характеристик рассеяния света, а иммунофенотипирование клеток выполняется с помощью специфических антител, связанных с флуоресцентными красителями. Поэтому для обеспечения оптимальной ежедневной работы прибора важно, чтобы параметры рассеяния света и флуоресценции, получаемые проточным цитометром, были стандартизованы. Флуоросферы широко применяются для стандартизации интенсивности рассеяния света и интенсивности флуоресценции фокусировки.¹⁻³

Стандартизацию прибора следует выполнять с теми же настройками детектора, что и при исследовании проб.¹ В каждой лаборатории следует определить оптимальные для нее настройки приборов и установить ежедневные значения.¹ Флуоросферы можно использовать для стандартизации следующих двух типов параметров проточного цитометра: интенсивности рассеяния света и интенсивности флуоресценции фокусировки. Эти параметры прибора можно стандартизировать, определив прямое рассеяние (FS), боковое рассеяние (SS) и интенсивность флуоресценции во время тестирования флуоросфер с использованием настроек прибора, специализированных для лаборатории и приложения. Измерение настроек прибора, необходимых для получения значений каждого из требуемых параметров флуоросфер, можно использовать при ежедневном мониторинге характеристик прибора.

ПРИНЦИПЫ ТЕСТИРОВАНИЯ

Характеристики данного реагента зависят от возможности проточного цитометра определять размеры частиц и флуоресцентные сигналы при разных длинах волн. Флуоросферы Flow-Set Pro представляют собой суспензию частиц с одинаковым стабильным размером и одинаковой интенсивностью флуоресценции. Стабильность данных параметров продукта позволяет выполнять стандартизацию настроек прибора (рассеяние света и интенсивность флуоресценции), используемых при количественном анализе человеческих лейкоцитов.

РЕАГЕНТЫ

Флуоросферы Flow-Set Pro
REF A63492 — флаконы 3 x 10 мл

СОСТАВ РЕАКТИВОВ

Флуоросферы Flow-Set Pro представляют собой полистирольные частицы с номинальным диаметром 3 мкм, взвешенные в водном растворе с сурфактантами и консервантами, в номинальной концентрации 1 x 10⁶ частиц/мл. Диапазон флуоресцентного излучения содержащихся в флуоросферах красителей находится в пределах 515–800 нм, 640–800 нм и 400–500 нм при возбуждении лазером с длиной волны 488 нм, 633–638 нм и 405 нм соответственно.

Показания: не применимо.
Противопоказания: не применимо.
Побочные эффекты: не применимо.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

	ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ.
реакционная масса из 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-она [№ EC 247-500-7] и 2-метил-4-изотиазолин-3-она [№ EC 220-239-6] (3:1) <0,05%	
Может вызывать аллергическую кожную реакцию.	
Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.	
Не допускать попадания в окружающую среду.	
Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения/лица.	
При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.	
снять загрязненную одежду и постирать перед использованием.	
	Паспорт безопасности доступен на веб-сайте beckman.com/techdocs .

- Этот продукт необходимо использовать только в форме оригинальной суспензии. Добавление органических растворителей или растворов с высокой ионной силой может привести к необратимому увеличению размера флуоросфер или их агрегации.
- Флуоросферы за долгий период хранения могут осесть. Перед использованием убедитесь, что флуоросферы полностью возвращены в состояние суспензии.
- Во время хранения не подвергайте флуоросферы воздействию света.
- Не используйте флуоросферы после истечения срока хранения, указанного на этикетке флакона.
- Не используйте флуоросферы, разлитые по тестовым пробиркам более чем 3 часа назад.
- При работе с этим реагентом придерживайтесь принципов надлежащей лабораторной практики (GLP).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Этот реагент стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении при температуре 2–8 °C. Не замораживайте. Минимизируйте воздействие света. Вскрытый флакон стабилен в течение 65 дней. Вскрытые флаконы после использования следует хранить в холодильнике. Добавленные в тестовые пробирки флуоросферы необходимо через 3 часа утилизировать.

ПРИЗНАКИ РАЗРУШЕНИЯ

Появление вторичных флуоресцентных популяций, содержащих более 20% от общей популяции, может указывать на разрушение; в этом случае продукт использовать нельзя.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Перед использованием флуоросферы Flow-Set Pro необходимо тщательно перемешать. Пробы в тестовых пробирках необходимо перемешать на вихревом смесителе. Не используйте флуоросферы, разлитые по тестовым пробиркам более чем 3 часа назад. Другие действия по подготовке проб не нужны.

ПРОЦЕДУРА ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Флуоросферы Flow-Set Pro
REF A63492 — флаконы 3 x 10 мл

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Пробирки необходимого размера
Проточный цитометр
Вихревой смеситель

Процедура установки целевых диапазонов, высокого напряжения (ВН) и усиления

ПРИМЕЧАНИЕ. Флуоросферы Flow-Set Pro могут использоваться в качестве альтернативы проточному цитометру Cytomics FC 500 с программным обеспечением CXP, если этикетка изделия и программного обеспечения упоминает флуоросферы Flow-Set, Flow-Set 675 и/или Flow-Set 770 за исключением следующих случаев.

Рабочие характеристики для использования с двумя конфигурациями коллинеарного возбуждения лазера проточного цитометра Cytomics FC 500 не установлены.

Такие случаи требуют использования флуоросфер Flow-Set, PN 6607007:

- tetraCXP;
- stemCXP;
- реагентов FlowCARE PLG CD4, PN 627808;
- счетных комплексов LeukoSure, PN 175621;
- флуоросфер LeukoSure, PN 6607124.

Используйте эту процедуру для установки целевых диапазонов и ВН, усиления параметров флуоресценции и/или рассеяния света при стандартизации приложения реагента. **Если используется автоматизированная система проточной цитометрии IVD (Beckman Coulter)**, то целевые диапазоны устанавливать не нужно, поскольку они предоставляются для каждой партии на листе образцов, включенном в данный комплект. Диапазоны высокого напряжения и усиления для текущего контроля работы прибора получены при анализе Flow-Set Pro флуоросфер Fluorospheres в разные промежутки времени после нагревания и юстировки прибора на протяжении как минимум 5 дней с целью получения 20 точек данных. Спецификации диапазонов высокого напряжения и усиления, и **специальные примечания для проверки данных контроля качества параметров светорассеяния приведены на этапе 12 и 13: фактическое (общее) усиление.**

В случае использования определенного приложения Beckman Coulter application, см. руководство по системе этого приложения и выполняйте соответствующие инструкции по установке прибора, включая стандартизацию и ежедневный мониторинг контроля качества.

- Убедитесь, что проведена оптимальная юстировка проточного цитометра.
- Для получения параметров флуоресценции, которые требуется анализировать, используйте фильтры, рекомендованные изготовителем (см.



инструкции по использованию прибора или вкладыш в упаковке реагента).

3.

a. Для диапазонов флуоресценции и/или рассеяния света:

Используя соответствующий протокол теста, обработайте окрашенную пробу, которая содержит отрицательную флуоресцентную популяцию (популяции), напр., изотипические контрольные клетки, и отрегулируйте параметры высокого напряжения и усиления для прямого рассеяния (FS) и бокового рассеяния (SS), чтобы оптимизировать разрешение всех кластеров лейкоцитов. Установите высокое напряжение (ВН) соответствующей флуоресценции в положение отрицательной флуоресценции в конце первого десятка. Запишите настройки прибора для параметров FS, SS и флуоресценции.

b. Для селекции CD45:

Используя соответствующий протокол теста, обработайте пробу, окрашенную реагентом моноклональных антител, содержащим CD45. Отрегулируйте параметры высокого напряжения и усиления бокового рассеяния (SS) и флуоресценции CD45, чтобы оптимизировать разрешение всех кластеров лейкоцитов. Запишите настройки прибора для параметров SS и CD45.

4. Создайте для флуоресфер протокол в виде гистограмм для каждого требуемого параметра рассеяния света и логарифма флуоресценции. Назначьте область гистограммы FS в качестве селектора для гистограмм SS и логарифма флуоресценции. Создайте линейную область (курсор) в каждой гистограмме (см. рис. 1).
5. Введите настройки прибора, определенные выше в шаге 3. Установите цветовую компенсацию на 0% для всех параметров флуоресценции. Установите для параметра флуоресценции значение остановки на 10 000 событий.
6. Энергично перемешайте флакон с флуоресферами Flow-Set Pro. Добавьте в тестовую пробирку 15–20 капель (около 0,5 мл) флуоресфер Flow-Set Pro.

ВАЖНО: ЧТОБЫ ИЗБЕЖАТЬ ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ПОРЧИ, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ ФЛУОРОСФЕРЫ, РАЗЛИТЫЕ ПО ТЕСТОВЫМ ПРОБИРКАМ БОЛЕЕ ЧЕМ 3 ЧАСА НАЗАД.

7. Перемешайте на вихревом смесителе и проанализируйте пробу с флуоресферами.
8. Если необходимо, отрегулируйте область FS таким образом, чтобы внутри области оказалась основная популяция флуоресфер. Если необходимо, отрегулируйте дискриминатор FS до требуемого низкого уровня, при котором отображается основная популяция FS. Убедитесь, что курсор расположен напротив пиков популяций для всех необходимых параметров.
9. Запишите значения X-Mode (интенсивности пиков) всех требуемых параметров.
10. Повторите действия с 3 этапа по 9, пропустив этап 4 и зарегистрировав 20 точек данных. Получите данные в разные промежутки времени после нагревания и юстировки прибора на протяжении как минимум 5 дней (убедитесь, что настройки записаны, как указано в шаге 9).
11. После регистрации 20 точек данных подсчитайте среднее значение X-Mode для необходимых параметров, которые будут целевыми диапазонами. Для получения информации о введении установленных целевых диапазонов в мастер определения приложения для стандартизации см. соответствующие инструкции по использованию прибора. Указания по установке ширины области приведены в соответствующей инструкции по использованию прибора.

12. Рассчитайте и запишите диапазон среднего $\pm 2SD$ или $\pm 1\%$ (в зависимости от того, что больше) для ВН и/или усиления каждого параметра. Используйте диапазон среднее $\pm 2SD$ или $\pm 1\%$ для создания графика Леви-Дженнингса для каждого требуемого параметра.
13. Для каждого параметра девятью пять процентов (95%) значений должны попасть в диапазон $\pm 2SD$ или $\pm 1\%$ (в зависимости от того, что больше) диапазонов ВН и/или усиления.
14. Повторите этапы 1—12 для каждого нового приложения, требующего различных установок прибора, а также каждый раз, когда значительно меняются сигналы рассеяния или флуоресценции (например, при смене фотоэлектронного умножителя, юстировке лазера, и т.д.).
15. После установки целевых диапазонов параметров светорассеяния и флуоресценции, а также диапазонов ВН и/или усиления прибора, перейдите к Процедуру ежедневной стандартизации прибора. При использовании проточного цитометра Cytomics FC 500 до выполнения Процедуры ежедневной стандартизации прибора перейдите к следующему этапу, чтобы внести необходимые изменения в протокол CXP.
16. При использовании на проточном цитометре Cytomics FC 500 выполните следующие действия.
 - a. Добавьте флуоресферы Flow-Set Pro в качестве продукта контроля качества (окно редактирования продуктов генератора отчетов), следуя инструкциям интерактивной справки.
 - b. Отредактируйте и сохраните существующие протоколы стандартизации Flow-Set (*_STAND) или любой протокол стандартизации, созданный мастером определения приложения с модифицированными областями, названиями областей и установками селекторов в соответствии с рисунком 2. См. интерактивную справку CXP для подробной информации о редактировании областей и установок селекторов в протоколе.
 - c. Отредактируйте области протокола *_STAND, которые будут выбраны для экспорта контроля качества в диалоговом окне Regions Properties (Свойства областей). См. интерактивную справку CXP для получения инструкций о настройке Области контроля качества для экспорта на графики Леви-Дженнингса. Сохраните протокол.

ПРИМЕЧАНИЕ. Протоколы CXP_STAND

запрограммированы на работу при низком расходе. Протоколы Navios_STAND запрограммированы на работу со средней скоростью движения.

Процедура ежедневной стандартизации прибора

1. Убедитесь, что проведена оптимальная юстировка проточного цитометра.
2. Для получения параметров флуоресценции, которые требуется анализировать, используйте только рекомендуемые фильтры (см. инструкции по использованию прибора или вкладыш в упаковке реагента).
3. Задайте график соответствующего приложения автоматической настройки (для получения инструкций по составлению графика см. соответствующие инструкции по применению прибора). При запуске неавтоматизированного протокола выберите протокол анализа флуоресфер Flow-Set Pro (см. этап 4 Процедуры установки целевых диапазонов, высокого напряжения и усиления).
4. Энергично перемешайте флакон с флуоресферами Flow-Set Pro.
5. Добавьте в тестовую пробирку 15–20 капель (около 0,5 мл) флуоресфер Flow-Set Pro.

ВАЖНО: ЧТОБЫ ИЗБЕЖАТЬ ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ПОРЧИ, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ ФЛУОРОСФЕРЫ, РАЗЛИТЫЕ ПО ТЕСТОВЫМ ПРОБИРКАМ БОЛЕЕ ЧЕМ 3 ЧАСА НАЗАД.

6. Перемешайте на вихревом смесителе и проанализируйте пробу с флуоресферами.
7. При запуске автоматической настройки следуйте инструкции по использованию прибора, чтобы подтвердить правильность настроек. При запуске неавтоматизированного протокола стандартизации настройте прибор таким образом, чтобы каждый пик флуоресфер находился в целевом диапазоне, определенном в качестве номинального диапазона лаборатории (см. Процедуру установки целевых диапазонов, ВН и/или усиления прибора).
8. Проверьте сопутствующий образец контроля качества для автоматического обновления значений X-Mode в загруженных графиках Леви-Дженнингса и таблице данных. В качестве альтернативы можно записать значения X-Mode (интенсивности пиков), ВН и/или усиления всех требуемых параметров в ежедневный журнал.
9. Проверьте сопутствующий образец контроля качества для автоматического обновления значений ВН и/или усиления в загруженных графиках Леви-Дженнингса и таблице данных. В качестве альтернативы можно отметить значения ВН и/или усиления для каждого требуемого параметра на соответствующем графике Леви-Дженнингса.
10. Ежедневно повторяйте действия этапов 1–9.
11. Для каждого параметра девятью пять процентов (95%) значений должны попасть в диапазон $\pm 2SD$ или $\pm 1\%$ (в зависимости от того, что больше) диапазонов ВН и/или усиления. Если значения выходят за границы диапазона, см. раздел УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ.

Специальные примечания для проверки данных контроля качества параметров светорассеяния: фактическое (общее) усиление

Усиление сигналов прямого рассеяния (FS) и бокового рассеяния (SS) контролируется посредством настройки фактического (общего) усиления. Общее усиление является суммой вспомогательного усиления (напряжение) и линейного усиления (усиление).

- Автоматическая настройка позволяет оптимизировать напряжение и усиление линейных параметров, обеспечивая самый низкий уровень системного шума. Иногда система может отрегулировать усиление, исходя из настройки по одной точке данных, что приведет к более низкому соответствующему снижению напряжения в заданном целевом диапазоне каналов. И наоборот, система может понизить усиление и увеличить напряжение для одного и того же целевого диапазона в различных точках данных.
- Понимание взаимосвязи между напряжением и усилением для общего усиления является важным фактором в оценке данных контроля качества линейных параметров. Оценку данных контроля качества напряжения и усиления необходимо проводить одновременно. Общее усиление линейных параметров можно подсчитать вручную при помощи следующей формулы:

Фактическое (общее) усиление = усиление $\times [1 + (0,003 \times \text{ВН})]$

- Общее усиление можно отметить на графике Леви-Дженнингса вместо напряжения.



Процедура проверки при изменении партии

ПРИМЕЧАНИЕ. Используйте эту процедуру при изменении партии флуоросфер Flow-Set Pro. Чтобы определить средние значения и целевые диапазоны ВН и/или усиления для новой партии, параллельно обработайте старую и новую партии в соответствии с принятыми в лаборатории процедурами. Если используется автоматизированная система проточной цитометрии IVD (Beckman Coulter), проверка при изменении партии не требуется. Подходящие целевые значения для определенной партии см. в Таблице настроек целевого приложения.

1. Убедитесь, что проведена оптимальная юстировка проточного цитометра.
2. Для получения параметров флуоресценции и светорассеяния, которые требуется анализировать, используйте только рекомендуемые фильтры (см. инструкции по использованию прибора или вкладыш в упаковке реагента).
3. Выберите текущий протокол стандартизации, используемый в лаборатории. Используя текущую партию флуоросфер Flow-Set Pro, выполните процедуру ежедневной стандартизации. Запишите значения X-Mode (интенсивности пиков), высокого напряжения и/или усиления всех требуемых параметров в ежедневный журнал лаборатории.
4. Энергично перемешайте флакон новой партии флуоросфер Flow-Set Pro.
5. Добавьте в тестовую пробирку 15–20 капель (около 0,5 мл) флуоросфер Flow-Set Pro из новой партии.

ВАЖНО: ЧТОБЫ ИЗБЕЖАТЬ ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ПОРЧИ, НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ ФЛУОРОСФЕРЫ, РАЗЛИТЫЕ ПО ТЕСТОВЫМ ПРОБИРКАМ БОЛЕЕ ЧЕМ 3 ЧАСА НАЗАД.

6. Перемешайте на вихревом смесителе и проанализируйте пробу с флуоросферами.
7. Обработайте флуоросферы Flow-Set Pro из новой партии с теми же настройками, как в шаге 3 выше. Убедитесь, что области расположены напротив пиков популяций для всех необходимых параметров.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если используете протокол * _STAND, установите флажок «AutoAdjust disable» (Автоматическая настройка отключена) в AutoSetup II Wizard (Мастер автоматической настройки II) при анализе новой партии флуоросфер Flow-Set Pro.

8. Запишите значения X-Mode (интенсивности пиков) всех требуемых параметров.
9. После повторных регистраций необходимых значений, подсчитайте и запишите среднее значение X-Mode и определите целевые диапазоны для каждого параметра согласно инструкциям по использованию прибора.
10. Перенесите новые целевые каналы в протокол анализа флуоросфер Flow-Set Pro. Если необходимо, отрегулируйте положение области, чтобы оно соответствовало новым целевым каналам. Для получения информации об изменении значений верхнего и нижнего пределов области в протоколе анализа флуоросфер Flow-Set Pro см. соответствующие инструкции по использованию прибора. Указания по установке ширины области приведены в соответствующей инструкции по использованию прибора.
11. Используйте новые целевые диапазоны при выполнении процедуры ежедневной стандартизации прибора.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Установки прибора варьируются в зависимости от метода подготовки пробы и должны выставляться соответственно. В каждой лаборатории следует определить свои собственные диапазоны для каждого используемого прибора, метода подготовки пробы и флуоресцентного красителя.
2. Рабочие характеристики для использования с двумя конфигурациями коллинеарного возбуждения лазера проточного цитометра Cytomics FC 500 не установлены.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

1. Убедитесь, что образец не был разбавлен или загрязнен.
2. Убедитесь, что флуоросферы Flow-Set Pro хорошо перемешаны.
3. Проверьте отсутствие повышенного количества пузырьков в оболочке фильтра. Если вы подозреваете наличие засорения или пузырька, промойте или заправьте линию проб.
4. Для дополнительных процедур по поиску и устранению неисправностей обратитесь к инструкциям по использованию приборов.
5. Убедитесь, что дискриминатор FS настроен таким образом, чтобы полностью отображать основную популяцию 3 мкм флуоросфер.
6. Если более 5% показателей находятся вне установленного диапазона, ваша лаборатория, возможно, должна установить свои собственные диапазоны. См. Процедуру установки целевых диапазонов, высокого напряжения и/или усиления.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации. Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.
2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо третьих лиц, либо непреодолимой силы.
3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ: ООО «Бекмен Культер», 109004, г. Москва, ул. Станиславского, д.21, стр.3
Тел./факс, e-mail: (495) 9846730/(495) 228-67-00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

ССЫЛКИ

1. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline-Second Edition. 2007. CLSI document H42-A2.
2. Guideline for flow cytometric immunophenotyping: A report from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS. 1993. Cytometry, 14:702-715.
3. Guidelines for Performing Single-Platform Absolute CD4+ T-Cell Determinations with CD45 Gating for Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. January 31, 2003. MMWR 2003; 52 (No. RR-2):1-15.

ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

Флуоросферы Flow-Set Pro
 A63492 — флаконы 3 x 10 мл

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем компании Beckman Coulter.

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (Кат. № C05838).

 Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ирландия
www.beckman.com

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ: ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел.: +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

© 2020 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.

Лист регистрации изменений

Редакция AL, 09.17

Изменения были внесены в:
■ Добавлены новые языки.

Редакция AM, 04.18

Изменения были внесены в:
■ Процедура установки целевых диапазонов, высокого напряжения (ВН) и усиления
■ ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Редакция AN, 01.20

Изменения были внесены в:
■ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ



Рисунок 1: Пример протокола прибора при использовании флуоросфер Flow-Set Pro во время стандартизации проточного цитометра для десятицветного анализа.

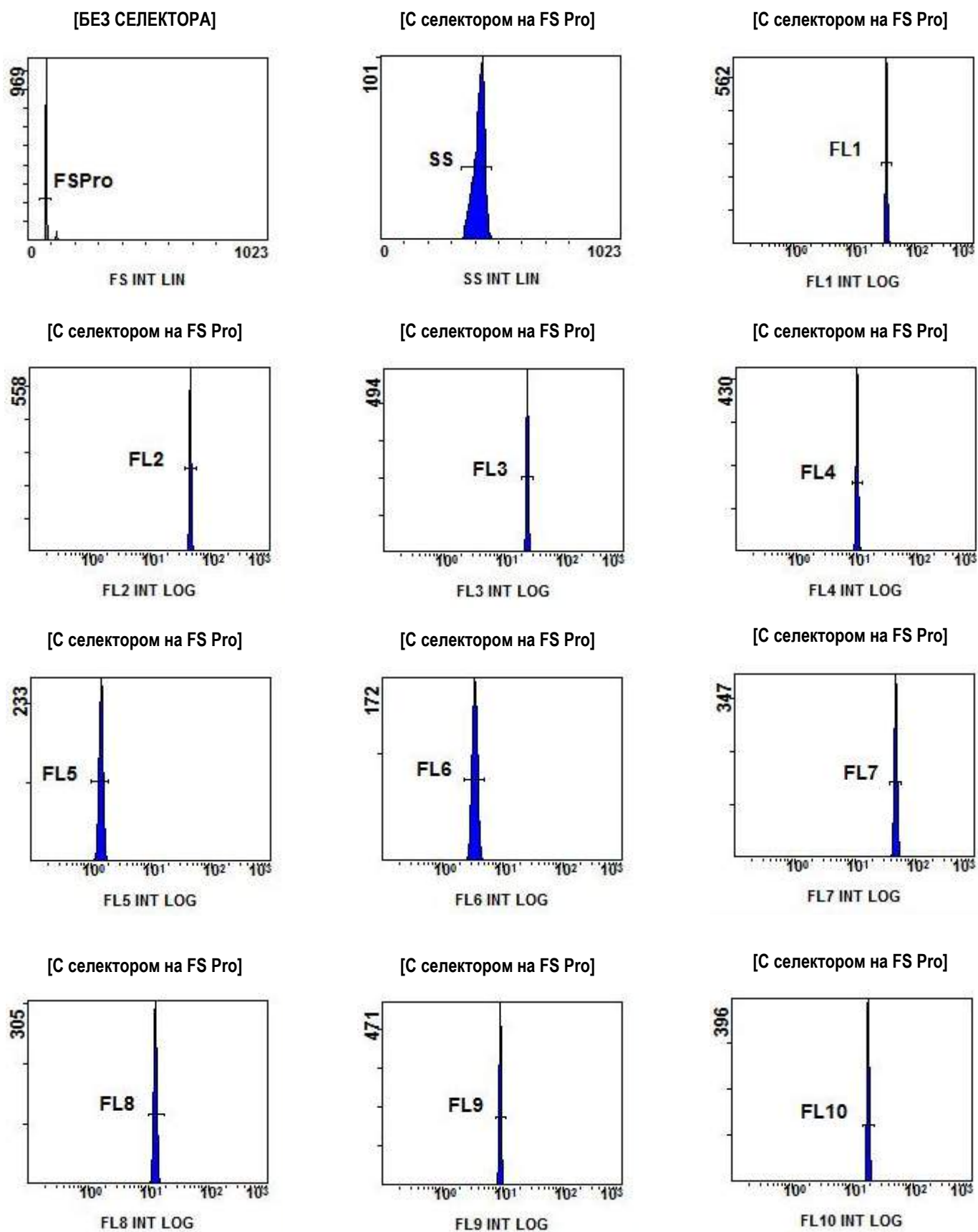
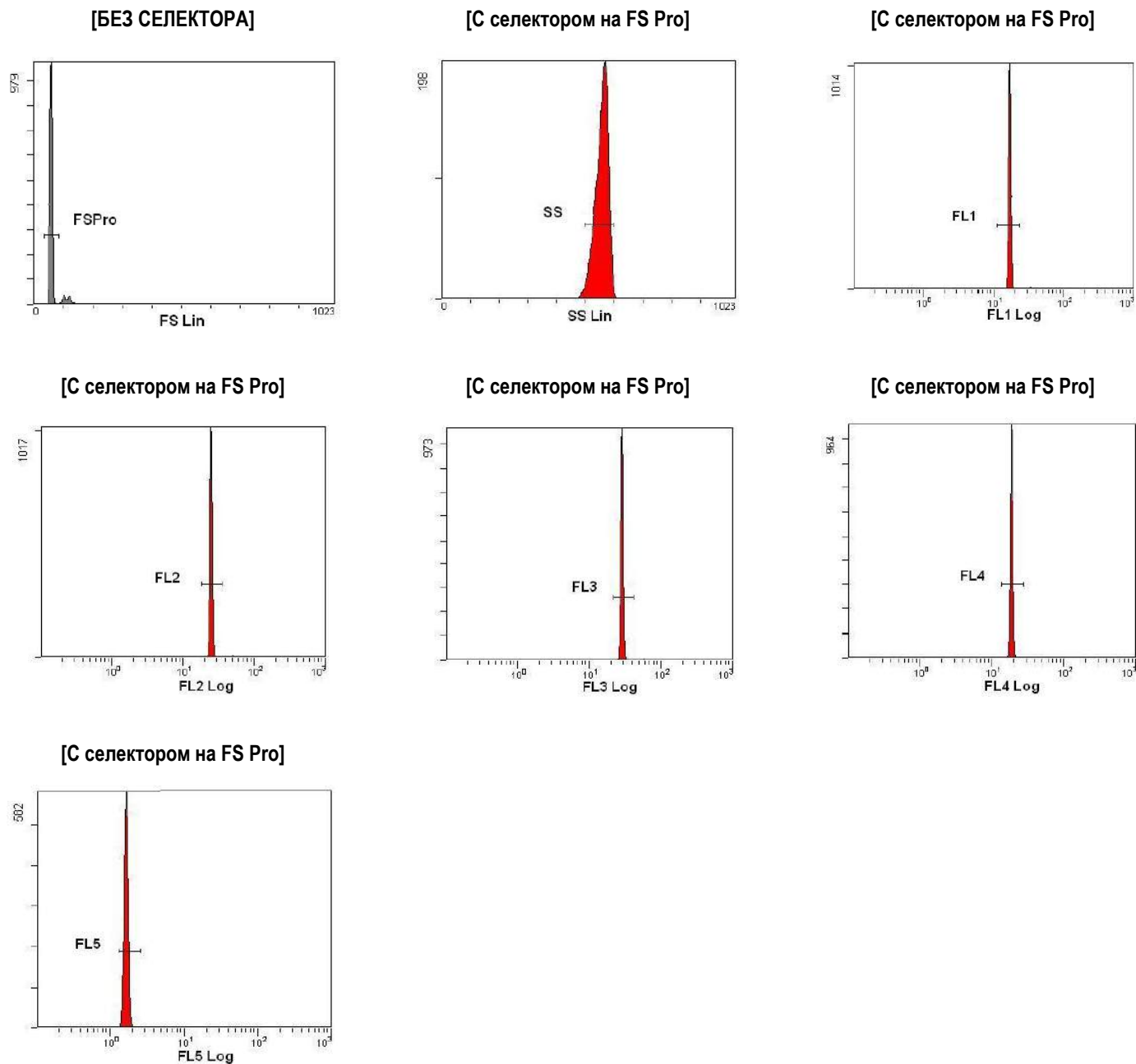


Рисунок 2. Пример протокола прибора Cytomics FC 500 с программным обеспечением CXP при использовании флуоросфер Flow-Set Pro, с применением пяти цветов и одного лазера.



REF A63493 — 3 x 10 мл

Кат. № A70450-AN



Проверка оптической юстировки проточного цитометра



НАЗНАЧЕНИЕ

Флуоросферы Flow-Check Pro — это суспензия флуоресцирующих микросфер, используемая для ежедневной проверки оптической юстировки проточного цитометра Navios EX или Cytomics FC 500 и струйной системы.

КОНЕЧНЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Этот продукт предназначен для профессионального использования в лаборатории.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

При проведении проточного цитометрического анализа выполняется юстировка оптической и струйной систем с целью максимальной детекции флуоресцентного и рассеянного сигналов. Применение стандартизированных флуоросфер для проверки оптической юстировки хорошо обосновано.¹⁻³ Flow-Check Pro представляет собой смесь различных типов флуоросфер, каждый из которых имеет унифицированные стабильные размеры и флуоресцентную интенсивность. Единство параметров позволяет проводить настройку и/или проверку юстировки оптической и струйной систем проточных цитометров.

РЕАГЕНТЫ

Флуоросферы Flow-Check Pro
REF A63493 — 3 x 10 мл

СОСТАВ РЕАКТИВОВ

Флуоросферы Flow-Check Pro представляют собой смесь флуоросфер размером 10 мкм с диапазоном флуоресценции от 515 нм до 800 нм при возбуждении волной 488 нм, размером 6 мкм с диапазоном флуоресценции от 640 нм до 800 нм при возбуждении волной 635 нм, и размером 3 мкм с диапазоном флуоресценции от 400 нм до 500 нм при возбуждении волной 405 нм. Эта смесь взвешена в водном растворе, содержащем сурфактанты и консерванты, при общей концентрации 2×10^6 флуоросфер/мл (номинальная концентрация).

Показания: не применимо.

Противопоказания: не применимо.

Побочные эффекты: не применимо.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

		ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ.	
реакционная масса из 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-она [№ EC 247-500-7] и 2-метил-4-изотиазолин-3-она [№ EC 220-239-6] (3:1) <0,05%			
Может вызывать аллергическую кожную реакцию.			
Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.			
Не допускать попадания в окружающую среду.			
Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения/лица.			
При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.			
снять загрязненную одежду и постирать перед использованием.			
		Паспорт безопасности доступен на веб-сайте beckman.com/techdocs .	

1. Этот продукт необходимо использовать только в форме оригинальной суспензии. Добавление органических растворителей или растворов с высокой ионной силой может привести к необратимому увеличению размера флуоросфер или их агрегации.
2. Флуоросферы за долгий период хранения могут осесть. Перед использованием убедитесь, что флуоросферы полностью возвращены в состояние суспензии.
3. Не используйте флуоросферы после истечения срока хранения, указанного на этикетке флакона.
4. Руководствуйтесь надлежащей лабораторной практикой (НЛП) при манипуляциях с этим реагентом.
5. Не отбрасывайте флуоросферы непосредственно из флакона. Используйте для этого тестовую пробирку.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Этот реагент стабилен до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении при температуре 2–8°C. Не замораживайте. Минимизируйте воздействие света. Вскрытый флакон стабилен в течение 65 дней. Вскрытые флаконы после использования следует хранить в холодильнике.

ПРИЗНАКИ РАЗРУШЕНИЯ

Невозможность получения ожидаемых результатов может свидетельствовать о нестабильности или разрушении. Присутствие двухвершинного пика не является обязательным признаком порчи продукта. Обратитесь к соответствующим руководствам по использованию прибора, чтобы получить информацию о рабочих характеристиках и определении ожидаемых результатов.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Подготовки не требуется. Флуоросферы Flow-Check Pro используют прямо из флакона без разведения. Перед применением необходимо тщательно перемешать.

ПРОЦЕДУРА ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Флуоросферы Flow-Check Pro
REF A63493 — 3 x 10 мл

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Пробирки необходимого размера

Проточный цитометр

Вихревой смеситель

Процедура ежедневной проверки юстировки и струйной системы

ПРИМЕЧАНИЕ. Если этикетка изделия проточного цитометра Cytomics FC 500 и программного обеспечения упоминает флуоросферы Flow-Check, Flow-Check 675 и/или Flow-Check 770, это значит, что флуоросферы Flow-Set Pro могут быть использованы в качестве альтернативного изделия.

Рабочие характеристики для использования с двумя конфигурациями коллинеарного возбуждения лазера не установлены.

1. Для регистрации соответствующих параметров флуоресценции применяйте набор фильтров, рекомендованный производителем (смотрите руководство по использованию прибора).
2. Составьте график соответствующего приложения юстировки. Подробности составления графика приложений см. в инструкции по применению прибора. Либо, если предпочтителен ручной протокол, создайте протокол тестирования флуоросфер Flow-Check Pro, содержащий гистограммы для прямого рассеяния (FS) и каждого необходимого линейного параметра флуоресценции. Создайте FC-синюю область селекции, включающую частицы размером 10 мкм. Назначьте этот селектор линейным гистограммам флуоресценции, соответствующим синим (488 нм) лазерным каналам. Создайте FC-красную область селекции, включающую частицы размером 6 мкм. Назначьте этот селектор линейным гистограммам флуоресценции, соответствующим красным (635 нм) лазерным каналам. Создайте FC-фиолетовую область селекции, включающую частицы размером 3 мкм. Назначьте этот селектор линейным гистограммам флуоресценции, соответствующим фиолетовым (405 нм) лазерным каналам. Создайте линейную область в каждой гистограмме. Установите цветовую компенсацию на ноль (0) процентов для всех компенсаций флуоресценции. Установите остановку на 5 000 событий, прошедших селекцию (см. Рис. 1), и убедитесь, что установлена низкая скорость движения.
3. Энергично встряхните флакон с флуоросферами Flow-Check Pro.
4. Добавьте в пробирку 15–20 капель (около 0,5 мл) флуоросфер Flow-Check Pro.

ВАЖНО! ЧТОБЫ ИЗБЕЖАТЬ ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ПОРЧИ, НЕ АСПИРИРУЙТЕ НЕПОСРЕДСТВЕННО ИЗ ФЛАКОНА.

5. Перемешайте содержимое пробирки в вихреватке Vortex, установите в карусель MCL и запустите ее.
6. Отрегулируйте напряжение прямого рассеяния, коэффициент усиления и классификатор, чтобы совокупности шариков были видны на графике прямого рассеяния. Отрегулируйте настройки детектора флуоресценции, чтобы разместить совокупности посередине шкалы.
7. Запишите HPCV и положение пика для каждого требуемого параметра.

ПРИМЕЧАНИЕ. Для канала прямого рассеяния запишите только полуширины коэффициенты вариации (HPCV) FC-синей области (10 мкм).

8. Ежедневно записывайте показатели HPCV для каждого необходимого параметра на его соответствующем графике Леви-Дженнингса.

ПРИМЕЧАНИЕ. Флуоросферы Flow-Check Pro могут быть добавлены к продуктам контроля качества (окно редактирования продуктов



генератора отчетов) в соответствии с инструкциями интерактивной справки. После добавления в качестве продукта контроля качества области протокола Flow-Check Pro могут быть выбраны для экспорта контроля качества в диалоговом окне свойств областей. См. интерактивную справку СХР для получения инструкций о настройке Области контроля качества для экспорта на графики Леви-Дженнинга.

ПРИМЕЧАНИЕ. При запуске протоколов BCI AutoSetup Flow-Check Pro критерий PASS/FAIL, наблюдающийся в конце сбора данных, представляет показатели HPCV, превышающие обозначенный в названии области протокола верхний предел. Проверьте данные контроля качества (QC) Леви-Дженнинга.

9. После запуска прибора повторите этапы 1–8.

ПРИМЕЧАНИЕ. Любой существующий протокол юстировки флуоросфер Flow-Check или протокол юстировки, созданный мастером определения приложения СХР, который будет использоваться для флуоросфер Flow-Check Pro, должен иметь протокол, сохраненный с модифицированными областями/названиями областей и назначениями селекторов, чтобы результаты контроля качества отслеживались должным образом. Требования к настройкам протокола см. на Рис. 2; подробности редактирования областей и установки селекторов см. в интерактивной справке СХР.

10. Когда результаты выходят за рамки ожидаемых ограничений, обратитесь к разделу о поиске и устранении неисправностей.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Анализируемые при повышенной скорости потока флуоросферы Flow-Check Pro могут продемонстрировать более широкое распределение совокупностей и более высокие показатели HPCV.
2. Ежедневный анализ флуоросфер Flow-Check Pro должен проводиться, используя положения пика, полученные в разделе «Процедура ежедневной проверки юстировки и струйной системы».
3. Рабочие характеристики для использования с двумя конфигурациями коллинеарного возбуждения лазера не установлены.

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

1. Убедитесь, что образец флуоросфер не был разбавлен или загрязнен. Разбавление флуоросфер Flow-Check Pro может привести к повышению показателей HPCV.
2. Убедитесь, что флуоросферы Flow-Check Pro хорошо перемешаны.
3. Проверьте отсутствие пузырьков в оболочке фильтра. Проверьте изображения гистограмм на наличие признаков засорения. Если вы подозреваете наличие засорения или пузырька, промойте или заправьте линию проб.
4. Для дополнительных процедур по поиску и устранению неисправностей обратитесь к Руководствам по использованию приборов.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Рабочие характеристики соответствуют платформе прибора:

Cytomics FC 500

Прямое рассеяние: HPCV показателей линейной интенсивности интегрального сигнала при использовании флуоросфер Flow-Check Pro составляет < 2%.

Флуоресценция: HPCV показателей линейной интенсивности интегрального сигнала при использовании флуоросфер составляет < 2% для FL1–FL4 и < 2,5% для FL5 от аргонного лазера.

Navios, Navios EX

Прямое рассеяние: HPCV показателей линейной интенсивности интегрального сигнала при использовании флуоросфер Flow-Check Pro составляет < 2% от возбуждения при 488 нм.

Флуоресценция: HPCV показателей линейной интенсивности интегрального сигнала при использовании флуоросфер составляет < 2% для FL1–FL4 и < 2,5% для FL5 от возбуждения при 488 нм, < 3,0% для FL6–FL8 от красного лазера и < 4,0% для FL9–FL10 от фиолетового лазера.

Ожидаемые результаты могут варьироваться вследствие отличий приборов, таких как цветные фильтры, мощность лазера, длина волны лазерного излучения, режим лазера, тип проточной кюветы, скорость доставки пробы и программа статистической обработки данных.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации. Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.
2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо третьих лиц, либо непреодолимой силы.
3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ: ООО «Бекмен Культер» 109004, г. Москва, ул. Станиславского, д.21, стр.3
Тел./факс, e-mail: (495) 9846730/(495) 228-67-00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

ССЫЛКИ

1. Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry; Approved Guideline-Second Edition. 2007. CLSI document H42-A2.
2. Guideline for Flow Cytometric Immunophenotyping: A Report From the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS. 1993. Cytometry 14:702-715.
3. 1994 Revised Guidelines for the Performance of CD4+ T-Cell Determinations in Persons with Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection. 1994. Mortality and Morbidity Weekly Report (MMWR). 43:7-8.

ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

Флуоросферы Flow-Check Pro
[REF]A63493 — 3 x 10 мл флаконы

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем компании Beckman Coulter.

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (Кат. № C05838).



Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ирландия
www.beckman.com

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ: ООО «Бекмен Культер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3. Тел.: +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

© 2019 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.

Лист регистрации изменений

Редакция AL, 06.18

Изменения были внесены в:

- Добавлены новые языки
- ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Редакция AM, 11.18

Изменения были внесены в:

- Добавлены новые языки

Редакция AN, 10.19

Изменения были внесены в:

- Добавлены новые языки
- ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ



Рис. 1. Образцы гистограмм флуоросфер Flow-Check Pro для десятицветной трехлазерной системы.

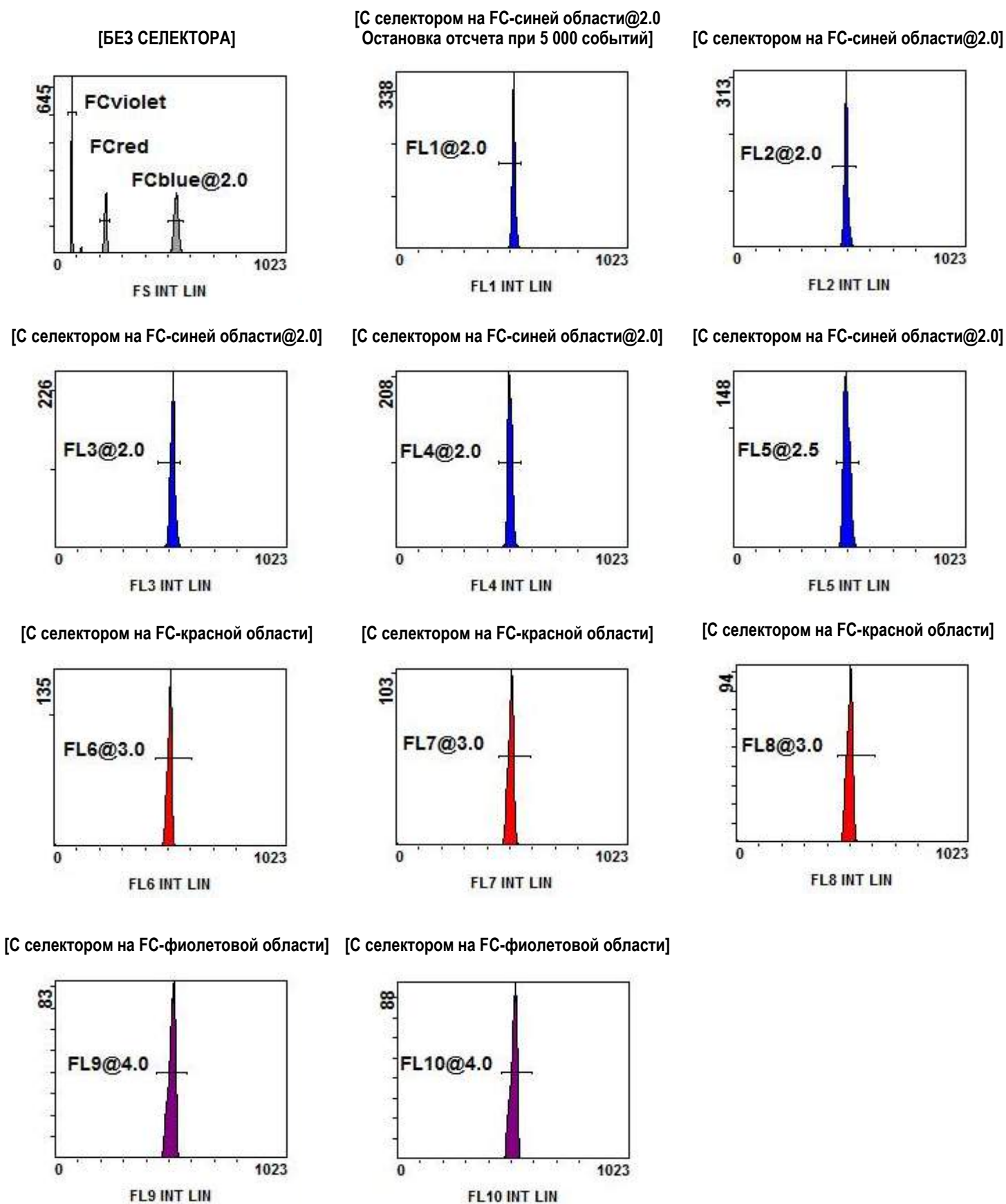
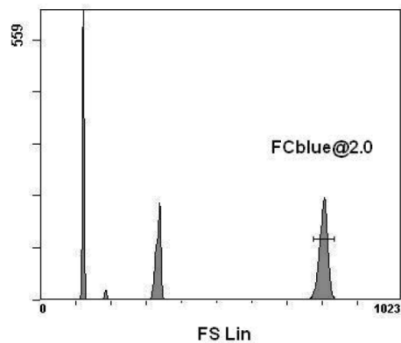


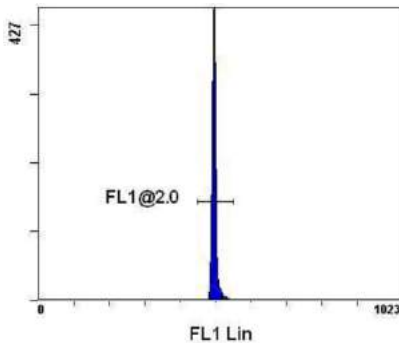
Рис. 2. Пример протокола флуоросфер Flow-Check Pro для Cytomics FC 500 с программным обеспечением СХР при возбуждении аргоновым лазером при 488 нм.

ПРИМЕЧАНИЕ. 3 мкм фиолетовые и 6 мкм красные возбужденные частицы, представленные на графике прямого рассеяния, не являются необходимыми для однолазерной оценки НРСВ на Cytomics FC 500.

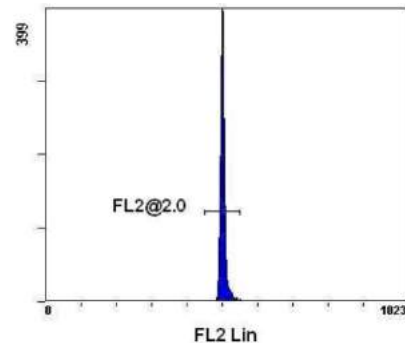
[БЕЗ СЕЛЕКТОРА]



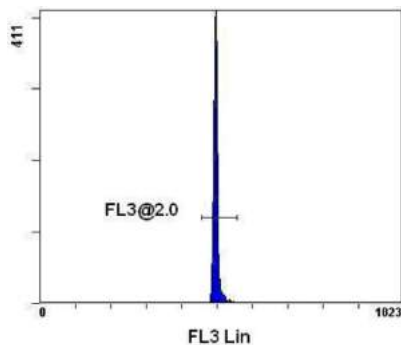
[С селектором на FC-синей области@2.0
Остановка отсчета при 5 000 событий]



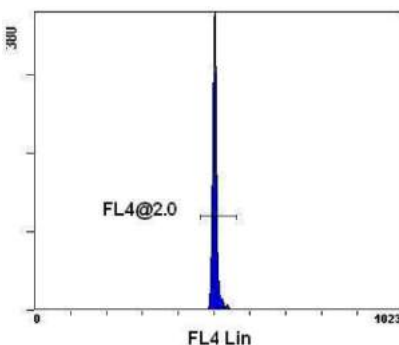
[С селектором на FC-синей области@2.0]



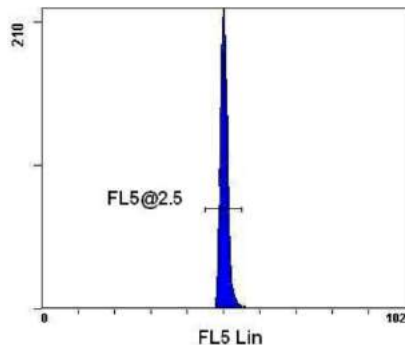
[С селектором на FC-синей области@2.0]



[С селектором на FC-синей области@2.0]



[С селектором на FC-синей области@2.0]



AQUIOS Tetra-1 Panel CD45-FITC/CD4-RD1/ CD8-ECD/CD3-PC5

REF B23533 — 50 тестов

AQUIOS Tetra-2+ Panel CD45-FITC/ (CD56+CD16)-RD1/ CD19-ECD/CD3-PC5

REF B23534 — 50 тестов

PN B25337-AG



	CD45-FITC	CD4-RD1	CD8-ECD	CD3-PC5	(CD56+CD16)-RD1	CD19-ECD
Специфичность	CD45	CD4	CD8	CD3	CD56, CD16	CD19
Клон	B3821F4A	SFC12T4D11	SFC121Thy2D3	UCHT1	N901/NKH-1, 3G8	J3-119
Гибридома	NS-1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c, SP2/0 x BALB/c	NS-1 x BALB/c
Иммуноген	Трансфектант, содержащий кДНК человеческого CD45	Человеческие периферийные Т-лимфоциты	Человеческие тимоциты	Человеческие тимоциты и лимфоциты периферической крови от пациента с лейкемией Сесари	Человеческие клетки хронической миелоидной лейкемии, человеческие нейтрофилы	Клетки лимфомы SKLY 18
Цепь Ig	IgG2b	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1 (оба)	IgG1
Вид	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь (оба)	Мышь
Источник	Асцитическая жидкость	Кондиционированная среда	Кондиционированная среда	Кондиционированная среда	Асцитическая жидкость, кондиционированная среда	Кондиционированная среда
Очистка	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография (оба)	Аффинная хроматография
Флуоресценция	Возбуждение при 468-509 нм Излучение при 504-541 нм	Возбуждение при 486-580 нм Излучение при 568-590 нм	Возбуждение при 486-580 нм Излучение при 610-635 нм	Возбуждение при 486-580 нм Излучение при 660-680 нм	Возбуждение при 486-580 нм Излучение при 568-590 нм (оба)	Возбуждение при 486-580 нм Излучение при 610-635 нм
Конъюгация	FITC (флуоресцеин изотианат)	RD1 (фикоэритрин)	ECD (фикоэритрин - Texas Red-X)	PC5 (фикоэритрин-Су5)	RD1 (фикоэритрин) (оба)	ECD (фикоэритрин-Texas Red-X)
Молярное отношение	FITC/Белок: 3-10	RD1/Белок: 0,5-1,5	ECD/Белок: 0,5-1,5	PC5/Белок: 0,5-1,5	RD1/Белок: 0,5-1,5 (оба)	ECD/Белок: 0,5-1,5

МОНОКЛОНАЛЬНОЕ АНТИТЕЛО



НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты моноклональных антител панели AQUIOS Tetra-1 и панели AQUIOS Tetra-2+ предназначены для использования с периферической цельной кровью на проточном цитометре AQUIOS CL для проведения иммунофенотипирования. Эти реагенты предназначены для использования с целью иммунологической оценки состояния пациентов с имеющимся или подозреваемым иммунодефицитом. Эти реагенты позволяют проводить идентификацию и подсчет:

■ Реагенты моноклональных антител панели AQUIOS Tetra-1

- Общий процент и абсолютные количества лимфоцитов CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3+CD4+/CD3+CD8+ (только соотношение).
- Абсолютное количество CD45+
- Процент и абсолютное количество CD45+ с низким показателем SS (лимфоциты)

■ Реагенты моноклональных антител панели AQUIOS Tetra-2+

- Общий процент и абсолютные количества лимфоцитов CD3+, CD3-CD19+, CD3-CD56+ и (или) CD16+.
- Абсолютное количество CD45+
- Процент и абсолютное количество CD45+ с низким показателем SS (лимфоциты)

См. инструкции в Руководстве пользователя AQUIOS Tetra System (PN B26364) о том, как использовать эти реактивы в системе и их соответствующие функциональные характеристики.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Общий лейкоцитарный антиген (CD45) — это трансмембранный белок, который вырабатывается в высоких концентрациях на ядродержащих гемопоэтических клетках, за исключением мегакариоцитов/тромбоцитов и эритроидных серий.⁶¹ Селекция лейкоцитов на основе антигена CD45 наряду с CD4 позволяет проводить быстрый

подсчет абсолютного количества и процента Т-клеток CD4.^{62,63,64} Использование плотности экспрессии антигена CD45 полезно в дифференциации между здоровыми и злокачественными лейкоцитами. Плотность экспрессии антигена CD45 в некоторых злокачественных клетках низкая (например, при острых миелолейкозах), что позволяет отличить злокачественные клетки от здоровых.

Популяция лимфоцитов периферической крови человека состоит из клеток трех типов: Т-клеток (происходят из тимуса), В-клеток (происходят из костного мозга) и NK-клеток (природные клетки-киллеры).⁴ Эти типы клеток нельзя разделить морфологически при помощи микроскопии, но можно различить по характерным антигенным детерминантам на поверхности их клеточных мембран.

Т, В и NK-лимфоциты играют главную роль в функционировании иммунной системы. Разные подтипы Т-лимфоцитов могут распознавать специфические антигены, выполнять эффекторные функции и/или контролировать тип и интенсивность клеточного и/или гуморального иммунного ответа. При активации антигенами или макрофагами, представляемыми при участии Т-лимфоцитов, специфические В-лимфоциты дифференцируются в плазматические клетки, которые вырабатывают и секретируют специфические иммуноглобулины (Ig). NK-лимфоциты были идентифицированы как отдельная популяция цитолитических эффекторных клеток, которые, по-видимому, играют ключевую роль в регуляции гемопоэза, в защите от инфекций и в разрушении клеток злокачественных опухолей. Цитолитическая активность NK-лимфоцитов не контролируется антигенами классов I и II главного комплекса гистосовместимости (МНС).⁴

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Лимфоциты CD3+, CD4+, CD8+, и/или CD19+

Процентную долю и абсолютные количества лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+ и/или CD19+ можно использовать для оценки состояния иммунной системы и его значения для известных или неизвестных заболеваний, а также для мониторинга уровней этих клеток при трансплантации органов.^{17,25,26,27,28,29,30,31,32,33}

Например, идентификация аномального уровня лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+ и/или CD19+ может помочь при диагностике и/или определении прогноза неидентифицированных болезненных состояний с низким числом лейкоцитов. Изменение процентной доли лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+ и/или CD19+ после трансплантации органов (почки, сердца, печени, легкого) свидетельствует о том, что измерение числа Т-лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+) и/или В-лимфоцитов (CD19+) может быть полезно при мониторинге данных клеточных популяций.

Выявление аномально низкого уровня клеток CD4+ (иммунодефицита) и соответствующих соотношений CD4+/CD8+ также может помочь в постановке диагноза и/или определении прогноза иммунодефицитных заболеваний. Например, инфицирование вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), который является этиологическим агентом синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД), приводит к выраженному подавлению деятельности иммунной системы, в первую очередь, из-за селективного падения уровня CD4+ лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к этому вирусу.^{17,34} Прогрессирующее клиническое и иммунологическое истощение, как правило, коррелирует с уменьшением числа лимфоцитов CD4+.¹⁷

Лимфоциты CD3-(CD56+CD16)+

Популяции NK-лимфоцитов функционально определяются как популяции лимфоцитов, способные проявлять против мишеней, таких как опухолевые и инфицированные вирусами клетки, цитотоксичность, не связанную с МНС.³⁵

Соотношение CD4/CD8

Связанные с заболеваниями изменения в уровнях лимфоцитов CD4+ и CD8+ могут повлиять на соотношение CD4/CD8 (клетки-индукторы: клетки-супрессоры/цитотоксические). В связи с этим соотношение CD4/CD8 может быть полезным индикатором состояния иммунной системы при диагностике и определении прогноза.

Соотношение CD4/CD8 в сочетании с количеством лимфоцитов CD4+ широко используется для лабораторной оценки СПИД-ассоциированного комплекса и СПИДа.^{17,36} Соотношение CD4/CD8



у пациентов с прогрессирующим СПИДом приближается к нулю, а лимфоциты CD4+ не определяются.¹⁷ В таких случаях уровень лимфоцитов CD8+ может быть нормальным, повышенным или пониженным.

Пониженная процентная доля лимфоцитов CD4+ и CD8+ без существенных изменений соотношения CD4/CD8 наблюдалась у пациентов со стабильным функционированием почечного аллотрансплантата.⁵ Кроме того, пониженное соотношение CD4/CD8 и низкая процентная доля лимфоцитов CD4+ зафиксирована у пациентов в ходе фенотипической перестройки после трансплантации очищенного аутологичного костного мозга.^{31,32}

Клетки CD45+

Клетки CD45+ распознаются как белые кровяные клетки (лейкоциты) в случае экспрессии антигена CD45 на всех типах гемопоэтических клеток, за исключением зрелых эритроцитов и их непосредственных предшественников.^{7,8,9,10} При этом он не выявляется на клетках негемопоэтического происхождения. Антиген CD45 в сочетании с боковым рассеянием может применяться для определения лейкоцитов и дифференцировки конкретных клеточных популяций для иммунофенотипирования.

Клетки CD45+ с низким показателем SS (лимфоциты)

Клетки CD45+ с низким показателем SS распознаются как популяция лимфоцитов. Далее популяцию лимфоцитов можно дифференцировать на конкретные клеточные популяции для иммунофенотипирования.

Панель Lymphocyte Immunophenotyping (иммунофенотипирование лимфоцитов)

AQUIOS Tetra-2+ Panel позволяет выполнить подсчет основных популяций лимфоцитов пациента: клеток T, B и NK. Этот реактив может служить средством проверки качества (LymphoSum) для оценки полученного селектора лимфоцитов CD45/SS и учета всех популяций лимфоцитов. Общий процент лимфоцитов необходимо определять с помощью следующей формулы:

$$\text{Общая процентная доля лимфоцитов (\%)} = \%CD3+(T) + \%CD19+(B) + \%CD3-(CD56+CD16)+(NK).^{46,47}$$

При использовании в качестве панели AQUIOS Tetra-1 Panel также функционирует как средство проверки качества для образца в смысле измерения общей процентной доли лимфоцитов и лимфоцитов CD3+ по всей панели (внутрипанельная проверка CD3+).⁴⁷

МЕТОД АНАЛИЗА

Этот тест основан на способности моноклональных антител связываться с поверхностью клеток, экспрессирующих отдельные антигенные детерминанты. Специфическое окрашивание клеток осуществляется путем инкубации цельной крови с реактивом, содержащим моноклональные антитела. Реактивы моноклональных антител AQUIOS Tetra-1 Panel и AQUIOS Tetra-2+ Panel являются комбинацией четырех или пяти типов мышинных моноклональных антител, каждое из которых конъюгировано с конкретным флуоресцентным красителем и специфично к различным поверхностным клеточным антигенам.

Красные кровяные тельца лизируются с помощью комплекта реактивов для лизирования AQUIOS. Оставшиеся белые кровяные тельца анализируются путем проточной цитометрии с

использованием селекторов лимфоцитов. На первой гистограмме для каждого из реактивов селектор лимфоцитов определяется как имеющий яркую флуоресценцию CD45+ FITC и низкое боковое рассеяние (SS).

Для AQUIOS Tetra-1 Panel CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 использовались следующие гистограммы/графики для определения процента положительно окрашенных клеток: CD3+ (только положительная флуоресценция PC5), CD3+CD4+ (положительная флуоресценция PC5/RD1), CD3+CD8+ (положительная флуоресценция PC5/ECD).

Для AQUIOS Tetra-2+ Panel CD45-FITC/CD56+CD16-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 использовались следующие гистограммы/графики для определения процента положительно окрашенных клеток: CD3+ (только положительная флуоресценция PC5), CD3-CD56+ и/или CD16+ (только положительная флуоресценция RD1), CD3-CD19+ (только положительная флуоресценция ECD).

Программное обеспечение AQUIOS System с тестами Tetra-1 и Tetra-2+ в сочетании с реактивами моноклональных антител AQUIOS Tetra-1 Panel и AQUIOS Tetra-2+ Panel позволяет провести автоматизированный анализ популяций лимфоцитов. (См. подробнее в Руководстве пользователя AQUIOS Tetra System PN B26364.)

РЕАГЕНТЫ

Смотрите таблицу на странице 1.

СОСТАВ РЕАГЕНТА

Концентрация антигенов составляет 1,445/0,182/0,365/0,365 µg/тест для CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 и 1,445/0,022/0,091/0,247/0,365 µg/тест для CD45-FITC/CD56-RD1/CD16-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5.

Концентрация реагентов, не являющихся антителами, составляет: 0,2% BSA, 0,01 M фосфата калия, 0,15 M NaCl, 0,1% NaN₃ и стабилизаторы.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Йодоацетамид <0,1%	
Может вызывать аллергическую реакцию.	
	Паспорт безопасности доступен на веб-сайте beckman.com/techdocs .

1. Эти реагенты содержат 0,1% азид натрия. Азид натрия в кислой среде образует азотодородную кислоту — чрезвычайно токсичное соединение. Соединения азидов необходимо смыть проточной водой при утилизации. Эти меры предосторожности рекомендованы во избежание образования отложений в металлических трубах, в которых могут возникнуть условия, приводящие к взрыву. При попадании на кожу или в глаза обильно промойте водой.
2. С образцами, пробами и всеми контактирующими с ними материалами следует обращаться как с потенциально передающими инфекционные заболевания и утилизировать их с соблюдением соответствующих мер предосторожности.
3. Не снимайте поставляемую крышку с перегородкой с упаковки, пока не будете готовы к использованию содержимого.

4. Убедитесь, что транспортировочная крышка заменена крышкой с перегородкой непосредственно перед загрузкой в систему. В противном случае будет повреждена система проточного цитометра.
5. Ни в коем случае не пипетируйте ртом и избегайте попадания на кожу и слизистые оболочки.
6. Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетке флакона.
7. При хранении или инкубации сводите к минимуму воздействие света на реагенты.
8. Избегайте микробного загрязнения реагента, в противном случае возможно получение ошибочных результатов.
9. При работе с реагентом следуйте принципам надлежащей лабораторной практики (GLP).
10. Проверьте все графики данных и гистограммы до составления отчета о результатах. См. примеры стратегии селекции проточной цитометрии и графиков данных в Руководстве пользователя AQUIOS Tetra System (PN B26364).
11. При попадании в организм существует опасность отравления.
12. При попадании на кожу немедленно промойте большим количеством воды.
13. Не работайте с системой, если флакон реактива антител без крышки.
14. Если после прокола колпачка с мембраной флакон не находится в вертикальном положении, может произойти утечка.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Невскрытый реагент стабилен до истечения срока годности при хранении при температуре 2-8° C. Открытые флаконы стабильны 90 дней при хранении при температуре 2-8° C. Доведите реагент до температуры 2-8° C сразу после использования. Не замораживать. Минимизируйте воздействие света.

Флаконы реактивов моноклональных антител можно оставлять на системе AQUIOS при комнатной температуре максимум на протяжении 80 часов совокупно. Если лаборатория использует систему дольше 8 часов непрерывно, рекомендуется хранить карусель с флаконами моноклональных антител при температуре 2-8° C, а вторую карусель с моноклональными антителами загружать на следующий период.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Любые изменения физических свойств данного реагента (обычно это прозрачная розовая жидкость) или любые серьезные отклонения в показаниях, полученных для контрольных проб, могут свидетельствовать о разрушении; в этом случае реагент использовать нельзя.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Подготовки не требуется. Эти реагенты моноклональных антител используются прямо из флакона. Перед использованием доведите реагент до температуры в 18-26° C.

ПРИМЕЧАНИЕ: Убедитесь, что транспортировочная крышка удалена и заменена крышкой с перегородкой, поставленной в упаковку, перед размещением флакона в карусель системы.



ЗАБОР ОБРАЗЦОВ

- См. минимальный объем крови, необходимый для анализа, в Руководстве пользователя AQUIOS Tetra System (PN B26364).
- Оптимальное окрашивание достигается при количестве белых кровяных телец в диапазоне $0,3\text{--}25 \times 10^3$ клеток/мкл.
- Для получения подробной информации о сборе цельной крови путем венопункции и условиях, мешающих процедуре, см. Процедуру сбора диагностических образцов крови путем венопункции.^{38,65,66}

1. Возьмите образец венозной крови путем венопункции в пробирку для сбора крови в стерильных условиях с использованием рекомендованного антикоагулянта (ЭДТА).
2. Подсчитайте общее количество белых кровяных телец, используя установленную процедуру.

ПРОЦЕДУРА ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ОКРАШИВАНИЯ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ TETRA-1 PANEL И TETRA-2+ PANEL

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

AQUIOS Tetra-1 Panel
[REF] B23533 — 50 тестов (0,9 мл)

AQUIOS Tetra-2+ Panel
[REF] B23534 — 50 тестов (0,9 мл)

[REF] B30104 — крышка с перегородкой (1)

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Комплект реактивов для лизирования AQUIOS, PN B23538 — 100 тестов

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL, PN B23535
ИЛИ

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL Low, PN B25700
Пробирки для сбора крови с антикоагулянтом ЭДТА
Проточный цитометр AQUIOS CL

ПРОЦЕДУРА

1. Доведите антитела до температуры в $18\text{--}26^\circ\text{C}$.
2. Если флакон ранее не использовался в системе, снимите транспортировочную крышку и замените ее крышкой с перегородкой, поставляемой в упаковке. Замену транспортировочной крышки следует выполнять только непосредственно перед загрузкой в систему, чтобы система могла контролировать и точно отображать сведения о стабильности открытого флакона.

ПРИМЕЧАНИЕ. Поместив крышку с перегородкой на флакон, не снимайте ее.

3. ЗАГРУЗИТЕ образец в систему AQUIOS. Выберите Patient (Пациент) в пункте Test Request (Запрос на анализ).
 - В случае автоматического загрузчика введите пробирку(-и) в кассету для инструментов и поместите кассету на систему.
 - В случае загрузчика на одну пробирку перемешайте образец непосредственно перед тем, как помещать пробирку в зону подготовки пробирок. Просканируйте пробирку и поместите ее на систему.

4. GO (Запуск) автоматически инициируется при помещении контрольного образца(-ов) на систему.
 - В случае автоматического загрузчика система проанализирует контрольные образцы при загрузке кассеты.
 - В случае загрузчика для одной пробирки система проанализирует образцы при закрытии дверцы.
5. Дайте системе возможность подготовить и проанализировать образец(-цы).

См. подробные инструкции в Руководстве пользователя AQUIOS Tetra System PN B26364.

ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Ежедневный контроль качества — критически важный компонент обеспечения эффективности системы для приложения Tetra. См. Руководство пользователя AQUIOS Tetra System (PN B26364).

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Эти реагенты предназначены для использования только с проточными цитометрами AQUIOS.
2. Образцы необходимо готовить с помощью реагентов AQUIOS Tetra-1 Panel и AQUIOS Tetra-2+ Panel, а также системы реактивов для лизирования AQUIOS в течение 24 часов после сбора.
3. Абсолютное количество лимфоцитов CD45+ и процент и абсолютное количество лимфоцитов CD45+ с низким показателем SS должны использоваться только для иммунофенотипирования методом проточной цитометрии.
4. Перед окрашиванием и анализом храните образцы в пробирках для сбора крови при комнатной температуре.
5. Не охлаждайте образцы. Замороженные образцы могут дать ошибочные результаты.
6. Рекомендуемая жизнеспособность клетки для венозного образца крови составляет $>90\%$.
7. Реагенты моноклональных антител AQUIOS Tetra-1 Panel и AQUIOS Tetra-2+ Panel предназначены для использования с образцами цельной крови. Также их можно применять с клетками AQUIOS IMMUNO-TROL и/или AQUIOS IMMUNO-TROL Low. Реагенты не рекомендуется использовать со свежими и замороженными препаратами мононуклеарных клеток.
8. Не допускайте разбавления, отбора аликвот или замораживания реагентов. Продукт необходимо использовать в соответствии с инструкциями на маркировке.
9. У пациентов, проходивших лечение антителами к человеческим моноклональным антителам, обнаружение специфических выявляемых антигенов может быть снижено или отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки антителами, применявшимися для лечения.^{41,42,43}
10. Патологические состояния не всегда сопровождаются патологическими изменениями процентного содержания популяций лейкоцитов. У больного человека процентное соотношение лейкоцитов может быть такими же, как и у здорового. Используйте результаты анализа с учетом клинических и других диагностических данных.
11. С некоторыми пациентами могут возникать особые проблемы ввиду измененного или очень низкого числа некоторых клеточных популяций.
12. У пациентов с хроническим ВИЧ или повышенной вирусемией могут получаться меньшие, чем ожидалось, результаты NK-

лимфоцитов из-за фенотипического сдвига субпопуляций NK-клеток. В таких клинических условиях происходит селективная потеря CD56^{dim}/CD16+ субпопуляции NK-клеток и увеличение других патологических популяций NK-клеток. Используйте результаты тестирования в сочетании с клиническими и другими диагностическими данными.^{44,45}

13. Результаты, полученные с помощью проточной цитометрии, могут быть ошибочными, если лазер неверно отъюстирован или неправильно заданы селекторы и области.
14. В некоторых образцах чистота лимфоцитарного региона может быть снижена из-за нелимфоидных загрязнителей с низким SS и высокой флуоресценцией CD45, подобной популяциям лимфоцитов. Эти образцы могут соответствовать критериям приемлемой проверки надежности CD3+, если относительная пропорция клеток CD3+CD4+ и CD3+CD8+ остается неизменной, но результат при этом может быть неточным. Рекомендуется проводить проверку всех графиков данных в присутствии ожидаемой структуры окрашивания для всех образцов.
15. Не установлена эффективность использования в педиатрии.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

См. информацию о справочных диапазонах, линейности, точности метода, точности, диапазонах аналитических измерений и контроле качества в Руководстве пользователя AQUIOS Tetra System (PN B26364).

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Антиген CD45 экспрессируется на каждом типе гемопоэтических клеток, за исключением зрелых эритроцитов и их непосредственных предшественников.^{7,8} Он не был выявлен в дифференцированной негемопоэтической ткани.^{7,8,9,10}

Антиген CD3 обычно присутствует на клеточной поверхности зрелых тимоцитов, а также неактивированных и активированных зрелых Т-лимфоцитах периферической крови как индуцирующей, так и супрессорной/цитотоксической популяции.^{12,13,14}

Антиген CD4 присутствует на тимоцитах и индуцирующей популяции Т-лимфоцитов в периферической крови.^{13,14} В небольших количествах он также экспрессируется на моноцитах.¹⁷

Антиген CD8 обычно присутствует приблизительно на 80% тимоцитов и примерно на 30–35% Т-лимфоцитов периферической крови, а также на некоторых природных клетках-киллерах.^{15,18}

Антиген CD16 представляет собой низкоаффинный рецептор IgG (FcγRIII), связывающий иммунные комплексы, но не мономерный IgG. Антиген CD16 существует в двух различных формах, защищенных в двух различных генах: FcγRIIIA (или III-2) и FcγRIIIB (или III-1). Генетическая гетерогенность CD16 приводит к появлению альтернативных молекул, связанных с мембраной. Одна из них — трансмембранная форма (FcγRIIIA, 50 – 65 kDa), экспрессируемая на NK-клетках, моноцитах и макрофагах. Другая — форма, связанная с гликозилфосфатидилинозитолом (GPI) (FcγRIIIB, 48 kDa), экспрессируемый только на нейтрофилах.^{52,53} Было показано, что антиген CD16 не может быть нековалентно связан в мембране NK-клеток с цепью 16 kDa CD3ζ,⁵⁴ или с двумерной цели Fcγ.⁵⁵ Моноклональное антитело 3G8 (mAb)



связывается с FcγRIIIA, а также с FcγRIIIB (сильно). Было показано, что оно почти полностью блокирует связывание димеров IgG с FcγRIIIB.⁵⁶ Эксперименты, в которых к молекуле FcγRIIIB были применены аминокислотные мутации, показали, что на 3G8 mAb оказывают влияние замены Lys162 и Val164 в цикле FG проксимального по отношению к мембране области молекулы, похожей на Ig.^{57,59} 3G8 mAb был отнесен к кластеру дифференциации CD16 на Пятом международном семинаре по дифференциальным антигенам человеческих лейкоцитов, проведенном в Бостоне, США, в 1993 г.⁵⁸

Антиген CD19 экспрессируется на всех В-клетках, включая ранние клетки-предшественники В-клеток.³ Его также можно обнаружить на фолликулярных дендритных клетках и клетках-предшественниках миеломоноцитарной линии, однако он не экспрессируется на Т-клетках, моноцитах и гранулоцитах.^{1,19,20}

Антиген CD56 экспрессируется на субпопуляции лимфоцитов, которые проявляют активность натуральных киллеров (NK) (а также на различных типах нециркулирующих клеток неврального и (или) нейроэндокринного происхождения). Данная субпопуляция включает в себя как клетки натуральных киллеров (CD3 CD56+), так и подгруппу Т-клеток (CD3+CD56+).^{1,19,21,23} Клетки CD3-CD56+ способны запускать в периферической крови цитотоксические реакции (не связанные с TCR).^{21,22} CD56 не экспрессируется на других популяциях Т- или В-лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов или эритроцитов.^{23,24,25}

Об антигенной специфичности моноклональных антител CD45, CD3, CD4 и CD8, входящих в состав реагента моноклональных антител AQUIOS Tetra-1 Panel CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5, уже сообщалось в материалах 1-го и 5-го Международного семинара по типизации лейкоцитов (International Workshop for Leukocyte Typing).^{1,2}

Об антигенной специфичности моноклональных антител CD45, CD3, CD19, CD56 и CD16, входящих в состав реагента моноклональных антител AQUIOS Tetra-2+ Panel CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 CD16, уже сообщалось в материалах 1-го, 4-го и 5-го Международного семинара по типизации лейкоцитов (International Workshop for Leukocyte Typing).^{6,11,16,39}

Для оценки перекрестной реактивности моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD19 и CD56, входящих в состав реагентов моноклональных антител AQUIOS Tetra-1 Panel CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 и AQUIOS Tetra-2+ Panel CD45-FITC/CD56+CD16-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5, проводился скрининг на пробах крови нормальных здоровых взрослых людей-доноров. Результаты последовательно демонстрировали, что антитела CD3, CD4, CD8, CD19 и CD3-(CD56+CD16)-RD1 специфично реагировали с соответствующими популяциями лимфоцитов. Моноциты слабо окрашивались моноклональными антителами к CD4.

ССЫЛКИ

- Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer R, Tedder TF and Todd RF, eds. *Leukocyte Typing V*. Oxford, UK: Oxford University Press, 1995, Vol. 1. pp. 262, 263, 268, 270, 507-511; Vol. 2. pp. 1398-1400.
- Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Meistein C and Schlossman SF, eds. *Leukocyte Typing*. Springer-Verlag, New York; 1984, pp. 28, 41-42, 44, 196.
- McMichael AJ, ed. *Leukocyte Typing III*. Oxford: Oxford University Press, 1987, pp. 38, 40, 42, 43, 116, 167, 170-172, 176, 199, 202, 206, 302-308, 315, 475, 796-801.
- Robertson MJ, Cochran KJ, Cameron C, Le J-M, Tantravahi R, and Ritz J. Characterization of a cell line, NKL, derived from an aggressive human natural killer cell leukemia. *Experimental Hematology*, 1996, 24:406-415.
- Foon KA and Todd RF. Immunologic classification of leukemia and lymphoma. *Blood*, 1986, 68:1-31.
- Newman W Targan SF, and Fast LD. Immunobiological and immunochemical aspects of the T-200 family of glycoproteins. *Mol Imm*, 1984, 21:1113-1121.
- Coffman RL and Weissman IL. B220: A B cell specific member of the T-200 glycoprotein family. *Nature*, 1981, 289:681-693.
- Dalchau R and Fabre JW. Identification with a monoclonal antibody of predominantly B lymphocyte specific determinant of the human leucocyte common antigen. *J Exp Med*, 1980, 153:753-757.
- Omary MB, Trowbridge IS and Battifora HA. Human homologue of murine T-200 glycoprotein. *J Exp Med*, 1980, 152:842-852.
- Dalchau R, Kirkley J and Fabre JW. Monoclonal antibody to a human leukocyte-specific membrane glycoprotein probably homologous to the leukocyte common (L-C) antigen of rat. *Eur J Immunol*, 1981, 10:737-744.
- Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, and von dem Borne AEGKr., eds. *Leukocyte Typing IV. White Cell Differentiation Antigens*. Oxford, UK: Oxford University Press, 1989, pp. 536, 541, 699-702.
- Reinherz EL and Schlossman SF. The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell*, 1980, 19:821-827.
- Reinherz EL, Meuer S, Fitzgerald KA, Hussey RE, Levine H and Schlossman SF. Antigen recognition by human T lymphocytes is linked to surface expression of the T3 molecular complex. *Cell*, 1982, 30:735-743.
- Meuer SC, Acuto O, Hussey RE, Hodgdon JC, Fitzgerald KA, Schlossman SF and Reinherz EL. Evidence for the T3-associated 90K heterodimer as the T-cell antigen receptor. *Nature*, 1983, 303:808-810.
- Reinherz EL, Meuer SC, and Schlossman SF. The delineation of antigen receptors on human T lymphocytes. *Immunology Today*, 1983, 4:5-8.
- Ravetch J.V., Perussia, B., "Alternative membrane forms of FcγRIII (CD16) on human natural killer cells and neutrophils. Cell type-specific expression of two genes that differ in single nucleotide substitutions." 1989, *J. Exp. Med.*, 170(2), 481-497.
- de Martini RN and Parker JW. Immunologic alterations in human immunodeficiency virus infection: A review. *J Clin Lab Anal*, 1989, 3:56-70.
- Caligiuri M, Murray C, Buchwald D, Levine H, Cheney P, Peterson D, Komaroff AL and Ritz J. Phenotypic and functional deficiency of natural killer cells in patients with chronic fatigue syndrome. *J Immunol*, 1987, 139:3306-3313.
- Barclay AN, Birkeland ML, Brown MH, Beyers AD, Davis SJ, Samozza C, Williams AF eds. *The Leukocyte Antigen Facts Book*. London: Academic Press, 1993, pp. 106-109.
- Tedder TF and Isaacs CM. Isolation of a cDNA encoding the CD19 antigen of human and mouse B lymphocytes: a new member of the immunoglobulin superfamily. *J Immunol*, 1989, 143:712-717.
- Griffin JD, Hercend T, Beveridge RP, and Schlossman SF. Characterization of an antigen expressed by human natural killer cells. *J Immunol*, 1983, 130:2947-2951.
- Hercend T, Griffin JD, Bensussan A, Schmidt RE, Edson MA, Brennan A, Marray C, Daley JF, Schlossman SF, and Ritz J. Generation of monoclonal antibodies to a human natural killer clone. Characterization of two natural killer-associated antigens, NKH1A and NKH2, expressed on subsets of large granular lymphocytes. *J Clin Invest*, 1985, 75:932-943.
- Schmidt RE, Murray C, Daley JF, Schlossman SF, and Ritz J. A subset of natural killer cells in peripheral blood displays a mature T cell phenotype. *J Exp Med*, 1986, 164:351-356.
- Schmidt RE, Michon JM, Woronicz J, Schlossman SF, Reinherz EL, and Ritz J. 1987. Enhancement of natural killer function through activation of the T11 E rosette receptor. *J Clin Invest* 79:305-308.
- Benjamini E and Leskowitz S. *Immunology: A Short Course*. Second Edition. New York: Wiley-Liss, 1991, 211-244.
- Reinherz EL, O'Brien C, Rosenthal P and Schlossman SF. The cellular basis for viral-induced immunodeficiency: Analysis by monoclonal antibodies. *J Immunol*, 1980, 125:1269-1274.
- Felsenstein D, Carney WP, Lacovello VR and Hirsch MS. Phenotypic properties of atypical lymphocytes in cytomegalovirus induced mononucleosis. *J Infect Dis*, 1985, 152:198-203.
- Rinaldo CR, Ho M, Hamoudi WH, Gui X and DeBiaso RL. Lymphocyte subsets and natural killer cell responses during cytomegalovirus mononucleosis. *Infect Immun*, 1983, 40:472-477.
- Goldstein G, Lifter J and Mittler R. Immunoregulatory changes in human disease detected by monoclonal antibodies to T lymphocytes. In: *Monoclonal Antibodies in Clinical Medicine*. McMichael AJ and Fabre JW, eds. New York, NY: Academic Press, 1982, pp. 39-70.
- Schmidt RE. Monoclonal antibodies for diagnosis of Immunodeficiencies. *Blut*, 1989, 59:200-206.
- Pedrazzini A, Freedman AS, Andersen J, Heflin L, Anderson K, Takvorian T, Canellos GP, Whitman J, Coral F, Ritz J and Nadler LM. Anti-B cell monoclonal antibody purged autologous bone marrow transplantation for B-cell non-Hodgkin's lymphoma: Phenotypic reconstitution and B-cell function. *Blood*, 1989, 74:2203-2211.
- Preijers FWMB, DeWitte T, Wessels JMC, DeGast GC, Van Leeuwen E, Capel PJA and Haanen C. Autologous transplantation of bone marrow purged in vitro with anti-CD7-(WT1-) Ricin A Immunotoxin in T-cell lymphoblastic leukemia and lymphoma. *Blood*, 1989, 74:1152-1158.
- Ramos EL, Turka LA, Leggat JE, Wood IG, Milford EL and Carpenter CB. Decrease in phenotypically defined T helper inducer cells (T4+4B4+) and increase in T suppressor effector cells (T8+2H4+) in stable renal allograft recipients. *Transplantation*, 1989, 47:465-471.
- Fauci AS: The human deficiency virus: Infectivity and mechanism of pathogenesis. *Science*, 1988, 239:617-622.
- Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol*, 1989, 47:187.
- Taylor MGJ, Fahey JL, Detels R and Giorgi JV: CD4 percentage, CD4 number and CD4:CD8 ratio in HIV infection: How to choose and how to use. *J AIDS*, 1989, 2:114-124.
- Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for performing single-platform absolute CD4+ T-cell determinations with CD45 gating for persons infected with human immunodeficiency virus. *MMWR*, 2003; 52 (No. RR-2):1-13.
- Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, Approved Edition (H3). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Huizinga, T.W., Roos, D., von dem Borne, A.E., "Neutrophil Fc-gamma receptors: A two-way bridge



- in the immune system", 1990, Mar 15, Blood, 75(6), 1211-1214.
40. Nicholson JKA, Hubbard M and Jones BM. Use of CD45 fluorescence and side scatter characteristics for gating lymphocytes when using the whole blood lysis procedure and flow cytometry. Cytometry (Communications in Clinical Cytometry), 1996, 26:16-21.
 41. Cosimi AB, Colvin RB, Burton RC, Rubin RH, Goldstein G, Kung PC, Hansen WP, Delmonico FL and Russell PS. 1981. Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts. N. Engl. J. Med., 305:308-314.
 42. Kaufman A, Herold KC. Anti-CD3 mAbs for treatment of type 1 diabetes. Diabetes Metab Res Rev. 2009 May; 25(4):302-6.
 43. Frankel AE, Zuckero SL, Mankin AA, Grable M, Mitchell K, Lee YJ, Neville DM, Woo JH. Anti-CD3 recombinant diphtheria immunotoxin therapy of cutaneous T cell lymphoma. Curr Drug Targets. 2009 Feb; 10(2):104-9.
 44. Brunetta E, Hudspeth KL, Mavilio D. Pathologic Natural Killer Cell Subset Redistribution in HIV-1 infection: New Insights in Pathophysiology and Clinical Outcomes. Journal of Leukocyte Biology 2010;88 (Epub ahead of print 07/22/2010).
 45. Alter G, Malenfant JM, Delabre RM, Burgett NC, Yu XG, Lichterfeld M, Zaunders J, Altfeld M. Increased Natural Killer Cell Activity in Viremic HIV-1 Infection. The Journal of Immunology 2004(173):5305-5311.
 46. CDC: 1997 Revised Guidelines for Performing CD4+ T-Cell Determinations in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus (HIV). MMWR 1997; 46 (RR-2); 1-29.
 47. H42-A2 CLSI: Enumeration of Immunologically Defined Cell Populations by Flow Cytometry: Approved Guideline – 2nd Edition 2007.
 48. Zloza, et al. Multiple populations of T lymphocytes are distinguished by the level of CD4 and CD8 coexpression and require individual consideration. Journal of Leukocyte Biology 2006;79(4-6).
 49. EP06-A CLSI: Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.
 50. C28-A23 CLSI: Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, Third Edition.
 51. EP09-A2 CLSI: Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline.
 52. EP17-A CLSI: Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline.
 53. Ravetch, J.V., Perussia, B., "Alternative membrane forms of FcγRIII (CD16) on human natural killer cells and neutrophils. Cell type-specific expression of two genes that differ in single nucleotide substitutions." 1989, J. Exp. Med., 170(2), 481-497.
 54. Huizinga, T.W., Roos, D., von dem Borne, A.E., "Neutrophil Fc-gamma receptors: A two-way bridge in the immune system", 1990, Mar 15, Blood, 75(6), 1211-1214.
 55. Lanier, L.L., Yu, G., Phillips, J.H., "Coassociation of CD3 zeta with a receptor (CD16) for IgG Fc on human natural killer cells", 1989 Dec 14, Nature, 342(6251), 803- 805.
 56. Hibbs, M., L., Selvaraj, P., Carpen, O., Springer, T.A., Kuster, H., Jouvin, M. H., Kinet, J.P., "Mechanisms for regulating expression of membrane isoforms of Fc gamma RIII (CD16)", 1989 Dec 22, Science, 246(4937), 1608-1611.
 57. Tamm, A., Schmidt, R.E., "The binding epitopes of human CD16 (Fc gamma RIII) monoclonal antibodies: Implications for ligand binding", 1996 Aug 15, J. Immunol., 157(4), 1576-1581.
 58. Tamm, A., Bassmann, Schmidt, R.E., "Natural killer cell structural studies: Localization of the epitopes of human CD16 (FcγRIII) monoclonal antibodies on the molecular model of CD16", 1997, Leucocyte Typing VI, White Cell Differentiation Antigens, Kishimoto, T., et al, Eds., Garland Publishing, Inc., 324-326.
 59. Ritz, J., Trinchieri, G., Lanier, L.L., "NKcell antigens: section report", 1995, Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens. Schlossman, S.F., et al, Eds., Oxford University Press, 1367-1372.
 60. Tamm, A., Kister, A., Nolte, K.U., Gessner, J.E., and Schmidt, R.E. "The IgG binding site of human Fc gamma RIIIB receptor involves CC' and FG loops of the membrane-proximal domain." 1996 Feb 16, J Biol Chem, 271(7), 3659-66.
 61. Denny TN, Gelman R, Bergeron M, Landay A et al. A North American multilaboratory study of CD4 counts using flow cytometric panLeukogating (PLG): a NIAID-DAIDS Immunology Quality Assessment Program Study. Cytometry B Clin Cytom. 2008;74 Suppl 1:S52-64.
 62. Glencross D, Scott LE, Jani IV, Barnett D. CD45-assisted PanLeucogating for accurate, cost-effective dual-platform CD4+ T-cell enumeration. Cytometry. 2002 Apr;15;50(2):69-77.
 63. Reimann KA, O'Gorman MR, Spritzler J, et al. Multisite comparison of CD4 and CD8 T-lymphocyte counting by single- versus multiple-platform methodologies: evaluation of Beckman Coulter Flow-Count Fluorospheres and the tetraONE system. The NIAID DAIDS New Technologies Evaluation Group. Clin Diagn Lab Immunol. 2000 May;7(3):344-51.
 64. Suades R, Padró T, Alonso R, et al. Circulating CD45+/CD3+ lymphocyte-derived microparticles map lipid-rich atherosclerotic plaques in familial hypercholesterolaemia patients. Thromb Haemost. 2014 Jan;111(1):111-21.
 65. World Health Organization. WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. Geneva: WHO (2010). http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44294/1/9789241599221_eng.pdf
 66. World Health Organization. Laboratory biosafety manual: Third edition. Geneva: WHO (2004). http://www.who.int/ihr/publications/WHO_CDS_CS_R_LYO_2004_11/en/

ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

AQUIOS Tetra-1 Panel
CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5
[REF] B23533 — 50 тестов (0,9 мл)

AQUIOS Tetra-2+ Panel
CD45-FITC/(CD56+CD16)-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5
[REF] B23534 — 50 тестов (0,9 мл)

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь с местным представителем компании Beckman Coulter.

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (PN C05838).



Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ireland 353 (0)65 683 1100
www.beckman.com

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ: ООО «Бекмен Култер», 109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3. Тел.: +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

© 2018 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.

История редакций

Редакция AE, 06/2016

Изменения были внесены в:

- Добавить новые языки
- ЗАБОР ОБРАЗОВ
- ССЫЛКИ

Редакция AF, 09/2017

Изменения были внесены в:

- Добавить новые языки

Редакция AG, 10/2018

Изменения были внесены в:

- Добавить новые языки



IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL представляют собой аналитический лизируемый продукт для контроля качества исследования цельной крови для проведения анализа иммунофенотипирования с помощью моноклональных антител и проточной цитометрии. Он обеспечивает возможность контроля положительных клеток, обработанных таким же образом, как и образец цельной крови. Это позволяет провести проверку эффективности инструментов и реактивов. Он также позволяет проверить методы, используемые для окрашивания клеток-мишеней, лизирования эритроцитов и анализа образцов с использованием проточного цитометра AQUIOS CL.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Иммунофенотипический анализ с использованием проточной цитометрии включает в себя идентификацию и подсчет клеток-мишеней в образцах цельной крови. Перед анализом путем проточной цитометрии образцы цельной крови окрашиваются моноклональными антителами, а эритроциты лизируются. Необходим контроль положительных клеток для проверки эффективности реактивов, методов подготовки образцов и процедур окрашивания.^{1,2} Контроль положительных клеток должен имитировать репрезентативный образец цельной крови в отношении эффективности моноклональных антител, лизирования эритроцитов и анализ путем проточной цитометрии.

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL — это жидкий препарат стабилизированных человеческих эритроцитов и лейкоцитов (лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов), обладающих свойствами лизирования, рассеивания света, экспрессии антигена и окрашивания антител, репрезентативными для нормальной человеческой цельной крови.

МЕТОД АНАЛИЗА

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL состоят из двух основных составляющих клетки: лейкоцитов и эритроцитов. Лейкоциты функционируют в качестве положительной составляющей клеток AQUIOS IMMUNO-TROL и включают поверхностные антигены, имеющиеся в клетках-мишенях, которые связываются с составляющей антител реактива моноклональных антител. Эритроциты функционируют в качестве лизируемого компонента клеток AQUIOS IMMUNO-TROL.

Образцы AQUIOS IMMUNO-TROL сначала окрашиваются реактивами моноклональных антител, а затем лизируются для удаления эритроцитов. Анализ путем проточной цитометрии окрашенных и лизированных образцов AQUIOS IMMUNO-TROL определяет процент и абсолютное число клеток-

мишеней. Ожидаемые результаты определяются на подтвержденных и стандартизированных системах AQUIOS.

РЕАГЕНТ

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL представляют собой жидкий препарат стабилизированных человеческих эритроцитов и лейкоцитов в стабилизирующем растворе, содержащем BSA.

При использовании анализов Tetra-1 Panel или Tetra-2+ Panel для каждой пробирки проводится 15 тестов. При использовании Tetra Combo для каждой пробирки проводится 10 тестов. В каждой крышке должно быть не более 15 проколов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Неомицина сульфат <0,1%
Пенициллин G, натриевая соль <0,1%
Может вызывать аллергическую реакцию.
 Паспорт безопасности доступен на веб-сайте beckman.com/techdocs .

- Этот реактив содержит <0,1% азида натрия. Азид натрия в кислой среде образует азотодородную кислоту — чрезвычайно токсичное соединение. Соединения азида необходимо смыть проточной водой при утилизации. Эти меры предосторожности рекомендованы во избежание образования отложений в металлических трубах, в которых могут возникнуть условия, приводящие к взрыву. При попадании на кожу или в глаза обильно промойте водой.
- ПОТЕНЦИАЛЬНО БИОЛОГИЧЕСКИ ОПАСНЫЙ МАТЕРИАЛ**
Каждая человеческая донорская единица, использованная в приготовлении данного материала, была протестирована с помощью утвержденного FDA метода на присутствие антител на вирус иммунодефицита человека (HIV-1 и HIV-2) и вирус гепатита C (HCV), а также на поверхностный антиген вируса гепатита B (HBsAg) и признана отрицательной (не являлась многократно реактивной). Так как никакой метод не может дать полную гарантию отсутствия вируса HIV, HCV, гепатита B (HBV) или других инфекционных агентов, манипуляции с данным реактивом должны осуществляться в соответствии с требованиями Уровня 2 биологической безопасности, как рекомендовано для всех потенциально инфекционных препаратов человеческой сыворотки или крови в руководстве Центра по контролю заболеваемости/ Национальных институтов здравоохранения «Биологическая безопасность в микробиологических и медико-биологических лабораториях», 1988 г.
- Ни в коем случае не пипетируйте ртом и избегайте попадания на кожу и слизистые оболочки.
- Не замораживайте реактивы.
- Избегайте микробного загрязнения реактивов, в противном случае возможно получение ошибочных результатов.
- При работе с этим реактивом придерживайтесь принципов надлежащей лабораторной практики (GLP).

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Не используйте реактив после истечения срока годности, указанного на этикетке флакона. Храните в вертикальном положении.

Невыскранный реактив стабилен до истечения срока годности при хранении при температуре 2-8° C.

Открытые флаконы стабильны 90 дней при хранении при температуре 2-8° C. Не замораживать.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Невозможность получить ожидаемые результаты или изменение рассеивания света или флуоресцентных свойств могут послужить признаками порчи продукта. Необходимо также исследовать стандартизацию инструментов, подготовку образцов и реактивов, окрашивание антител и эффективность антител. Гемолиз может свидетельствовать о неправильных условиях хранения, которые могут повлиять на эффективность продукта в отношении лизируемости.

ПРОЦЕДУРА

- Для каждой новой партии контрольного материала выберите кнопку штрихкода на главном экране программного обеспечения AQUIOS и отсканируйте штрихкод с бланка анализов для загрузки результатов анализа.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если считывание штрихкода не удалось, обратитесь к разделу **ВВОД РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ВРУЧНУЮ**.

- Доведите контрольный реактив и антитела до комнатной температуры.
- Аккуратно покрутите/переверните контрольный реактив, чтобы смешать продукт так же, как и при работе с образцом цельной крови.
- Убедитесь в создании запроса на контроль качества.
- Выберите QC (Контроль качества) в пункте Test Request (Запрос на анализ).
- ЗАГРУЗИТЕ контрольный(-е) материал(-ы) с крышками в систему AQUIOS.
 - В случае автоматического загрузчика введите контрольную(-ые) пробирку(-и) в кассету для инструментов и поместите кассету на систему.
 - В случае загрузчика на одну пробирку перемешайте контрольный материал непосредственно перед тем, как помещать пробирку в зону подготовки пробирок. Просканируйте пробирку и поместите ее на систему.
- GO (Запуск) автоматически инициируется при помещении контрольного материала(-ов) на систему.
 - В случае автоматического загрузчика система проанализирует контрольные материалы при загрузке кассеты.
 - В случае загрузчика для одной пробирки система проанализирует контрольные материалы при закрытии дверцы.
- Дайте системе возможность подготовить и проанализировать контрольные материалы.
- После окончания работы системы с пробиркой храните контрольные материалы в холодильнике в вертикальном положении.

ВВОД РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ВРУЧНУЮ:

- Нажмите кнопку Setup (Настройка).
- Нажмите кнопку Reagent Info (Информация о реактиве).
- Нажмите кнопку Edit (Редактировать).
- Выберите IMMUNO-TROL Cells (Клетки IMMUNO-TROL) или IMMUNO-TROL Low Cells (Клетки IMMUNO-TROL Low) в выпадающем списке реактивов/образцов.
- Выберите из выпадающего списка номеров партий номер партии или нажмите кнопку +, чтобы добавить новый номер партии.
- Введите дату истечения срока годности.
- Введите значения из бланка анализа в столбцы Min (Мин.) и Max (Макс.) таблицы.



ПРИМЕЧАНИЕ. Проценты необходимо вводить в виде десятичных дробей.

8. Нажмите Save (Сохранить).

См. подробную информацию о вводе контрольных значений в Руководстве по эксплуатации (IFU) PN B21896.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Средние значения определяются для каждого антигена при помощи проточного цитометра AQUIOS. При этих условиях 95% полученных значений должны попадать в указанный ожидаемый диапазон. Каждая лаборатория должна установить свое собственное среднее значение и ожидаемый диапазон для каждого анализируемого антигена.

Участие в Международной программе проверки качества (IQAP) Beckman Coulter обеспечивает возможность сравнения с данными аналогичных лабораторий и дополняет программу проверки качества в лаборатории.

ВАЖНО: ЗАПРЕЩАЕТСЯ перемещать участки или изменять компенсацию для контрольных анализов.

Представленные данные характеризуют ожидаемое исполнение.

Рисунок 1. Определяются популяции белых кровяных телец CD45-FITC по сравнению с боковым рассеянием. В первой области селекции определены лимфоциты

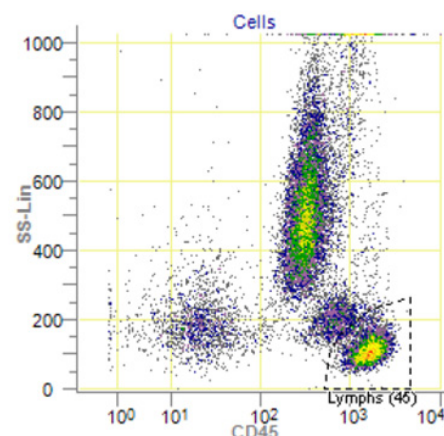
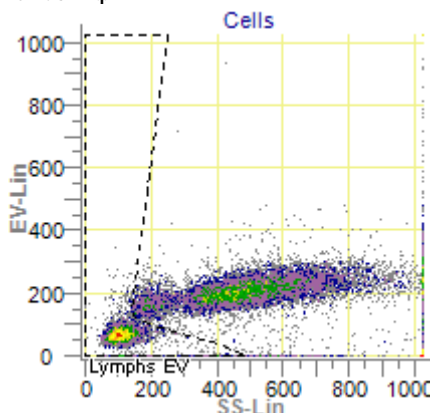


Рисунок 2. Точечная диаграмма EV/SS (Электронное определение объема и боковое рассеяние) создана для оптимизации интересующей популяции и определения второго гейта лимфы.



ПРИМЕЧАНИЕ. Этот график можно просмотреть на экране Detail Report (Подробный отчет).

Рисунок 3. Клетки CD3+: CD3+BCE (CD3-PC5) определяются путем селекции области Lymphs All (Все лимфоциты), ранее определенной боковым рассеянием CD45 (Рисунок 1) или CD45-EV (Рисунок 2) CD45-EV один или два.

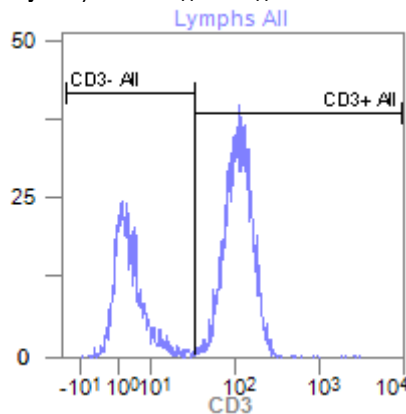


Рисунок 4. График CD4-RD1 по сравнению с CD8-ECD, рассчитанный на основе клеток CD3+ All.

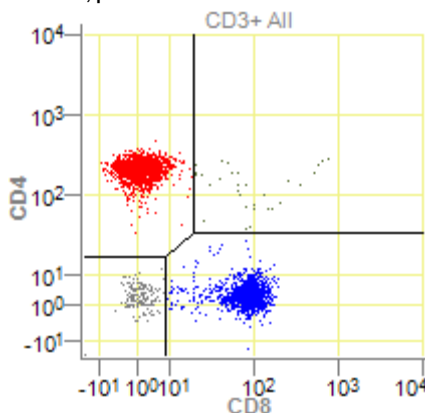
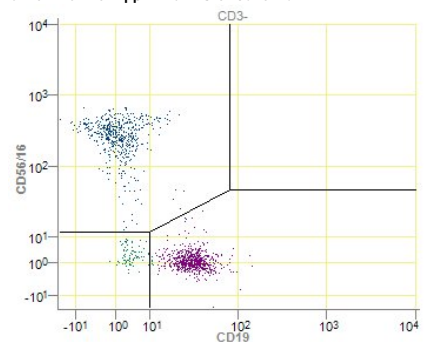


Рисунок 5. Гистограмма зависимости CD56/16-RD1 от CD19-ECD для комплекса CD3-



ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Ошибочные результаты могут быть получены в случае неправильной установки или стандартизации проточного цитометра с точки зрения флуоресценции или в случае неправильной селекции популяций клеток.
2. Результаты, полученные с помощью проточных цитометров, систем лизирования или антител, отличающиеся от тех, которые использовались для определения ожидаемых результатов, могут не попадать в ожидаемый диапазон.

ССЫЛКИ

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clinical Applications of Flow Cytometry: Quality Assurance and Immunophenotyping of Lymphocytes; Approved Guideline. 1998. NCCLS document H42-A.
2. 1997 Revised Guidelines for the Performance of CD4+ T-Cell Determination in Persons with Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection. MMWR, January 10, 1997, p.11.

ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

КЛЕТКИ AQUIOS IMMUNO-TROL
REF B23535 (2 флакона по 3 мл)

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь с местным представителем компании Beckman Coulter.

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (PN C05838).

Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ireland 353 (0)65 683 1100
www.beckman.com

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ:
ООО «Бекмен Култер»,
109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел.: +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

© 2018 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.

СВЕДЕНИЯ О ПЕРЕРАБОТКЕ И ИСПРАВЛЕНИИ ИЗДАНИЯ

Редакция AD, 06/2016

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки

Редакция AE, 09/2017

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки

Редакция AF, 10/2018

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки



Очиститель AQUIOS

REF B25698

PN B29145-AF



IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

Очиститель предназначен для использования компонентов проточного цитометра AQUIOS, которые пребывают в контакте с образцами крови.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Не содержащий азида и формальдегида, биологически разлагаемый очиститель, имеющий в своем составе протеолитические ферменты, помогающие в удалении белковых отложений в гидравлической системе и проточной кювете проточного цитометра.

ПРИНЦИПЫ ДЕЙСТВИЯ

Проходящие через гидравлическую систему и проточную кювету проточного цитометра белки крови со временем накапливаются, что в конечном итоге может привести к блокированию потока. Протеолитические ферменты очистителя расщепляют белки в гидравлической системе и проточной кювете.¹

АКТИВНЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ

Раствор протеолитических ферментов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

	ОПАСНО
Субтилизин <1%	
реакционная масса из 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-она [EC № 247-500-7] и 2-метил-4-изотиазолин-3-она [EC № 220-239-6](3:1) <0,05%	
Может вызывать аллергическую кожную реакцию.	
При вдыхании может вызывать симптомы аллергии или астмы либо затруднение дыхания.	
Избегать вдыхания испарений.	
В случае отсутствия надлежащей вентиляции применять средства защиты органов дыхания.	
ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить покой в положении, удобном для дыхания.	
При возникновении респираторных симптомов: обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу.	
Надевать защитные перчатки, защитную одежду, средства защиты органов зрения/лица.	
Снять загрязненную одежду и постирать перед использованием.	
	Паспорт безопасности доступен на веб-сайте beckman.com/techdocs .

- Не вдыхайте испарения и (или) не проглатывайте.
- Избегайте попадания в глаза и на кожу.
При попадании в глаза или на кожу, обильно промойте пораженное место водой как минимум в течение 15 минут.
- НЕ ИСПОЛЬЗУЙТЕ КОНТЕЙНЕРЫ ПОВТОРНО.

ХРАНИЕНИЕ, СТАБИЛЬНОСТЬ И УТИЛИЗАЦИЯ

- Храните очиститель AQUIOS при температуре 18-26 °C.
- Не применяйте после истечения срока годности.
- Используйте при температурах, указанных в интерактивной справке по прибору и (или) руководстве пользователя.
- Содержимое открытых контейнеров при хранении в соответствии с рекомендациями сохраняет стабильность в течение 90 дней.
- Утилизируйте отходы, неиспользованную продукцию и загрязненную упаковку в соответствии с государственными или местными нормативными требованиями.

ПОДГОТОВКА

Очиститель AQUIOS готов к использованию. Информацию по использованию данного реагента см. в инструкции по использованию PN B21896.

ВАЖНО! При частичном или полном замораживании, позвольте продукту нагреться до комнатной температуры. Осторожно переворачивая, перемешайте очиститель перед его введением в прибор.

СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Lin Y, Means GE, and Feeney RE. 1969. Action of proteolytic enzymes on N,N-dimethyl proteins. Basis for a microassay for proteolytic enzymes. *J Biol Chem*, 244(3):789-793.

ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

Очиститель AQUIOS — 1 x 500 мл
REF B25698

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь с вашим местным представителем компании Beckman Coulter.

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (PN C05838).

Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ireland 353 (0)65 683 1100
www.beckman.com

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ:
ООО «Бекмен Култер»,
109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел.: +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

© 2018 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.

СВЕДЕНИЯ О ПЕРЕРАБОТКЕ И ИСПРАВЛЕНИИ ИЗДАНИЯ

Редакция AD, 06/2016

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки

Редакция AE, 09/2017

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки

Редакция AF, 10/2018

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки



IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL Low представляют собой аналитический лизируемый продукт для контроля качества исследования цельной крови для проведения анализа иммунофенотипирования с помощью реактивов моноклональных антител и проточной цитометрии. Он обеспечивает возможность контроля положительных клеток, обработанных таким же образом, как и образец цельной крови. Это позволяет провести проверку эффективности инструментов и реактивов. Он также позволяет проверить методы, используемые для окрашивания клеток-мишеней, лизирования эритроцитов и анализа образцов с использованием проточного цитометра AQUIOS CL.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Иммунофенотипический анализ с использованием проточной цитометрии включает в себя идентификацию и подсчет клеток-мишеней в образцах цельной крови. Перед анализом путем проточной цитометрии образцы цельной крови окрашиваются моноклональными антителами, а эритроциты лизируются. Необходим контроль положительных клеток для проверки эффективности реактивов, методов подготовки образцов и процедур окрашивания.^{1,2} Контроль положительных клеток должен имитировать репрезентативный образец цельной крови в отношении эффективности моноклональных антител, лизирования эритроцитов и анализ путем проточной цитометрии.

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL Low — это жидкий препарат стабилизированных человеческих эритроцитов и лейкоцитов (лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов), обладающих свойствами лизирования, рассеивания света, экспрессии антигена и окрашивания антител, репрезентативными для нормальной человеческой цельной крови.

МЕТОД АНАЛИЗА

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL Low состоят из двух основных составляющих клеток: лейкоцитов и эритроцитов. Лейкоциты функционируют в качестве положительной составляющей клеток AQUIOS IMMUNO-TROL Low и включают поверхностные антигены, имеющиеся в клетках-мишенях, которые связываются с составляющей антител реактива моноклональных антител. Эритроциты функционируют в качестве лизируемого компонента клеток AQUIOS IMMUNO-TROL Low.

Образцы клеток AQUIOS IMMUNO-TROL Low сначала окрашиваются реактивами моноклональных антител, а затем лизируются для удаления эритроцитов. Анализ путем проточной цитометрии окрашенных и лизированных образцов клеток AQUIOS IMMUNO-TROL

Low определяет процент и абсолютное число клеток-мишеней. Ожидаемые результаты определяются на подтвержденных и стандартизированных системах AQUIOS.

РЕАГЕНТ

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL Low представляют собой жидкий препарат стабилизированных человеческих эритроцитов и лейкоцитов в стабилизирующем растворе, содержащем BSA.

При использовании анализов Tetra-1 Panel или Tetra-2+ Panel для каждой пробирки проводится 15 тестов. При использовании Tetra Combo для каждой пробирки проводится 10 тестов. В каждой крышке должно быть не более 15 проколов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Неомицина сульфат <0,1%
Пенициллин G, натриевая соль <0,1%
Может вызывать аллергическую реакцию.
 Паспорт безопасности доступен на веб-сайте beckman.com/techdocs .

- Этот реактив содержит <0,1% азид натрия. Азид натрия в кислой среде образует азотсодержащую кислоту — чрезвычайно токсичное соединение. Соединения азидов необходимо смыть проточной водой при утилизации. Эти меры предосторожности рекомендованы во избежание образования отложений в металлических трубах, в которых могут возникнуть условия, приводящие к взрыву. При попадании на кожу или в глаза обильно промойте водой.
- ПОТЕНЦИАЛЬНО БИОЛОГИЧЕСКИ ОПАСНЫЙ МАТЕРИАЛ**
Каждая человеческая донорская единица, использованная в приготовлении данного материала, была протестирована с помощью утвержденного FDA метода на присутствие антител на вирус иммунодефицита человека (HIV-1 и HIV-2) и вирус гепатита C (HCV), а также на поверхностный антиген вируса гепатита B (HBsAg) и признана отрицательной (не являлась многократно реактивной). Так как никакой метод не может дать полную гарантию отсутствия вируса HIV, HCV, гепатита B (HBV) или других инфекционных агентов, манипуляции с данным реактивом должны осуществляться в соответствии с требованиями Уровня 2 биологической безопасности, как рекомендовано для всех потенциально инфекционных препаратов человеческой сыворотки или крови в руководстве Центра по контролю заболеваемости/Национальных институтов здравоохранения «Биологическая безопасность в микробиологических и медико-биологических лабораториях», 1988 г.
- Ни в коем случае не пипетируйте ртом и избегайте попадания на кожу и слизистые оболочки.
- Не замораживайте реактивы.
- Избегайте микробного загрязнения реактивов, в противном случае возможно получение ошибочных результатов.
- При работе с этим реактивом придерживайтесь принципов надлежащей лабораторной практики (GLP).

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Не используйте реактив после истечения срока годности, указанного на этикетке флакона. Храните в вертикальном положении.

Невскрытый реактив стабилен до истечения срока годности при хранении при температуре 2-8° C. Открытые флаконы стабильны 90 дней при хранении при температуре 2-8° C. Не замораживать.

ПРИЗНАКИ ПОРЧИ

Невозможность получить ожидаемые результаты или изменение рассеивания света или флуоресцентных свойств могут послужить признаками порчи продукта. Необходимо также исследовать стандартизацию инструментов, подготовку образцов и реактивов, окрашивание антител и эффективность антител. Гемолиз может свидетельствовать о неправильных условиях хранения, которые могут повлиять на эффективность продукта в отношении лизируемости.

ПРОЦЕДУРА

- Для каждой новой партии контрольного материала выберите кнопку штрихкода на главном экране программного обеспечения AQUIOS и отсканируйте штрихкод с бланка анализов для загрузки результатов анализа.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если считывание штрихкода не удалось, обратитесь к разделу **ВВОД РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ВРУЧНУЮ**.

- Доведите контрольный реактив и антитела до комнатной температуры.
- Аккуратно покрутите/переверните контрольный реактив, чтобы смешать продукт так же, как и при работе с образцом цельной крови.
- Убедитесь в создании запроса на контроль качества.
- Выберите QC (Контроль качества) в пункте Test Request (Запрос на анализ).
- ЗАГРУЗИТЕ контрольный(-е) материал(-ы) с крышками в систему AQUIOS.
 - В случае автоматического загрузчика введите контрольную(-ые) пробирку(-и) в кассету для инструментов и поместите кассету на систему.
 - В случае загрузчика на одну пробирку перемешайте контрольный материал непосредственно перед тем, как поместить пробирку в зону подготовки пробирок. Просканируйте пробирку и поместите ее на систему.
- GO (Запуск) автоматически инициируется при помещении контрольного материала(-ов) на систему.
 - В случае автоматического загрузчика система проанализирует контрольные материалы при загрузке кассеты.
 - В случае загрузчика для одной пробирки система проанализирует контрольные материалы при закрытии дверцы.
- Дайте системе возможность подготовить и проанализировать контрольные материалы.
- После окончания работы системы с пробиркой храните контрольные материалы в холодильнике в вертикальном положении.

ВВОД РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ВРУЧНУЮ:

- Нажмите кнопку Setup (Настройка).
- Нажмите кнопку Reagent Info (Информация о реактиве).
- Нажмите кнопку Edit (Редактировать).
- Выберите IMMUNO-TROL Cells (Клетки IMMUNO-TROL) или IMMUNO-TROL Low Cells (Клетки IMMUNO-TROL Low) в выпадающем списке реактивов/образцов.
- Выберите из выпадающего списка номеров партий номер партии или нажмите кнопку +, чтобы добавить новый номер партии.
- Введите дату истечения срока годности.
- Введите значения из бланка анализов в столбцы Min (Мин.) и Max (Макс.) таблицы.



ПРИМЕЧАНИЕ: Проценты необходимо вводить в виде десятичных дробей.

8. Нажмите Save (Сохранить).

См. подробную информацию о вводе контрольных значений в Руководстве по эксплуатации (IFU) PN B21896.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Средние значения определяются для каждого антигена при помощи проточного цитометра AQUIOS. При этих условиях 95% полученных значений должны попадать в указанный ожидаемый диапазон. Каждая лаборатория должна установить свое собственное среднее значение и ожидаемый диапазон для каждого анализируемого антигена.

Участие в Международной программе проверки качества (IQAP) Beckman Coulter обеспечивает возможность сравнения с данными аналогичных лабораторий и дополняет программу проверки качества в лаборатории.

ВАЖНО: ЗАПРЕЩАЕТСЯ перемещать участки или изменять компенсацию для контрольных анализов.

Представленные данные характеризуют ожидаемое исполнение.

Рисунок 1. Определяются популяции белых кровяных телец CD45-FITC по сравнению с боковым рассеянием. В первой области селекции определены лимфоциты.

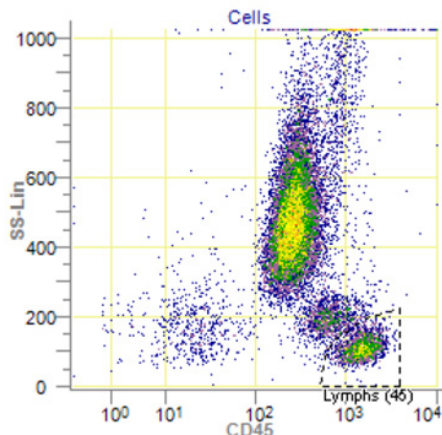
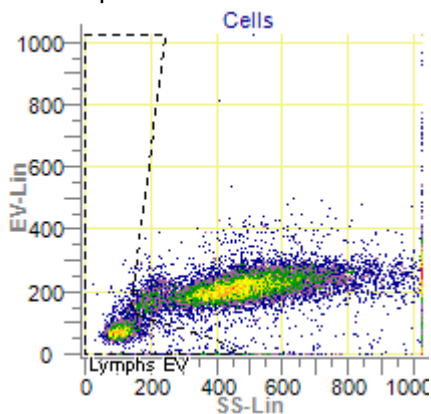


Рисунок 2. Точечная диаграмма EV/SS (Электронное определение объема и боковое рассеяние) создана для оптимизации интересующей популяции и определения второго гейта лимфы.



ПРИМЕЧАНИЕ. Этот график можно просмотреть на экране Detail Report (Подробный отчет).

Рисунок 3. Клетки CD3+: CD3+BCE (CD3-PC5) определяются путем селекции области Lymphs All (Все лимфоциты), ранее определенной боковым рассеянием CD45 (Рисунок 1) или CD45-EV (Рисунок 2) CD45-EV один или два.

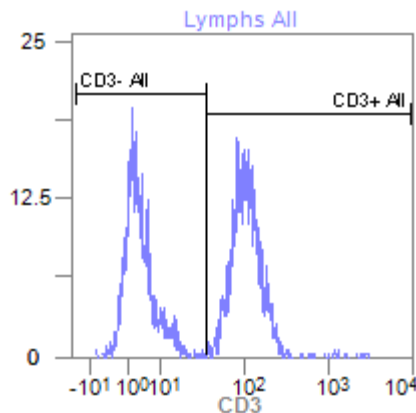


Рисунок 4. График CD4-RD1 по сравнению с CD8-ECD, рассчитанный на основе CD3+ All

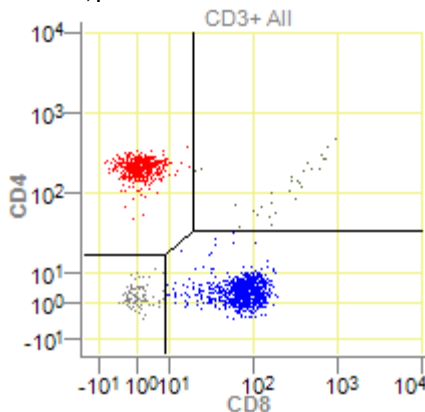
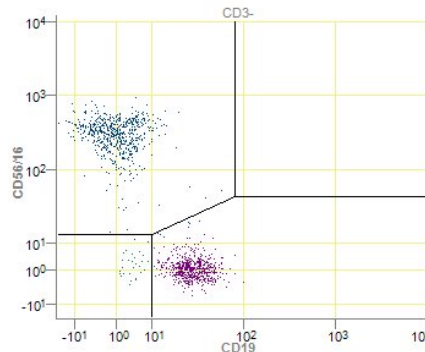


Рисунок 5. Гистограмма зависимости CD56/16-RD1 от CD19-ECD для комплекса CD3-



ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Ошибочные результаты могут быть получены в случае неправильной установки или стандартизации проточного цитометра с точки зрения флуоресценции или в случае неправильной селекции популяций клеток.
2. Результаты, полученные с помощью проточных цитометров, систем лизирования или антител, отличающиеся от тех, которые использовались для определения ожидаемых результатов, могут не попадать в ожидаемый диапазон.

ССЫЛКИ

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clinical Applications of Flow Cytometry: Quality Assurance and Immunophenotyping of Lymphocytes; Approved Guideline. 1998. NCCLS document H42-A.
2. 1997 Revised Guidelines for the Performance of CD4+ T-Cell Determination in Persons with Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection. MMWR, January 10, 1997, p.11.

ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

Клетки AQUIOS IMMUNO-TROL Low
REF B25700 (2 флакона по 3 мл)

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь с местным представителем компании Beckman Coulter.

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (PN C05838).



Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ireland 353 (0)65 683 1100
www.beckman.com

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ:
ООО «Бекмен Культер»,
109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел.: +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

© 2018 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.

СВЕДЕНИЯ О ПЕРЕРАБОТКЕ И ИСПРАВЛЕНИИ ИЗДАНИЯ

Редакция AD, 06/2016

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки

Редакция AE, 09/2017

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки

Редакция AF, 10/2018

Изменения были внесены в:
■ Добавить новые языки



Флуоросферы AQUIOS Flow-Count

REF B43611

- 100 тестов

REF B52937

- 400 тестов

PN B23571-AE



Бекмен Култер

Исследование абсолютного количества на Системе
проточной цитометрии AQUIOS CL

Для *In Vitro* диагностики

ПРЕДУСМОТРЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Флуоросферы AQUIOS Flow-Count представляет собой флуоресцентный микросферный реагент для прямого определения абсолютного количества лейкоцитов в биологических образцах на проточном цитометре AQUIOS CL.

Обратитесь к Руководству по работе с системой конкретного продукта, если необходимо, для получения полной информации о применении, включая предусмотренное применение, клиническую значимость и инструкции о том, как отбирать, окрашивать и лизировать образцы для проточного цитометрического анализа.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Общее абсолютное количество клеток и процентные значения лимфоцитов обычно получают с использованием количества лейкоцитов и лимфоцитов, подсчитанных на автоматическом гематологическом приборе, умноженного на процент положительно окрашенных клеток, измеренный на проточном цитометре. Этот стандартный (непрямой) метод, тем не менее, связан с широкими межлабораторными различиями.¹⁻⁴ Флуоросферы Flow-Count являются эффективной альтернативой стандартному (непрямому) методу абсолютного количества и предусматривает это измерение непосредственно с использованием единой платформы анализа иммунофенотипирования методом проточной цитометрии. При наличии идентичных объемов биологического образца и флуоросфер Flow-Count устанавливается соотношение клеток в образце к флуоросферам. Затем интересующие клетки и флуоросферы подсчитываются с помощью системы проточной цитометрии. Поскольку концентрация флуоросфер известна, абсолютное количество для каждой пробы автоматически рассчитывается программным обеспечением/алгоритмом по следующей формуле:

Абсолютное количество (клетки/мкл) =

Общее количество подсчитанных клеток	Измеренная концентрация
Общее количество подсчитанных флуоросфер	Флуоросфер проточного подсчета
X	

ПРИНЦИПЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИСПЫТАНИЯ

Метод проточного подсчета (прямой) зависит от смешивания известного объема и концентрации флуоросфер AQUIOS Flow-Count с известным объемом биологического образца. Образец готовится в соответствии с Руководством по работе с системой конкретного продукта, при необходимости.

СОСТАВ РЕАКТИВОВ

Флуоросферы AQUIOS Flow-Count состоят из флуоросфер полистирола 10 мкм (номинальный диаметр) в водной суспензионной среде, содержащей поверхностно-активное вещество и 1% формальдегида. Каждая флуоросфера содержит краситель, который имеет диапазон испускания флуоресценции от 525 до 700 мкм при возбуждении на 488 мкм. Измеренная концентрация флуоросфер Flow-Count является результатом многократного повторяющегося анализа на анализаторе размера частиц COULTER (КУЛЬТЕР).

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Никакой подготовки не требуется. Флуоросферы AQUIOS Flow-Count используются непосредственно из бутылки без разбавления. Весь алюминий из термосклеенного уплотнения должен быть удален с верхней части бутылки. Перед загрузкой в систему AQUIOS требуется надлежащее (вихревое от 10 до 12 секунд) перемешивание.

ПРЕДУПРЕЖДАЮЩИЕ НАДПИСИ

	ОПАСНО
	Формальдегид <3%
	Вызывает раздражение кожи.
	Может вызвать аллергическую реакцию кожи.
	Вызывает серьезное раздражение глаз.
	Предположительно приводит к генетическим дефектам.
	Может вызвать рак.
	Получите специальные инструкции перед использованием.
	Наденьте защитные перчатки, защитную одежду и средства защиты глаз/лица.
	При воздействии или потенциальном воздействии: обратитесь за медицинской помощью/консультацией
	Снимите загрязненную одежду и выстирайте ее перед использованием.
	Паспорт безопасности доступен на сайте beckman.com/techdocs..

1. Этот реагент содержит 1% формальдегида. Избегайте контакта с кожей и глазами, так как формальдегид может вызвать необратимые последствия для этих тканей. Не вдыхайте пары. Носите соответствующие средства защиты, такие как перчатки и средства защиты глаз.
2. Флуоросферы AQUIOS Flow-Count используются непосредственно из флакона. Не аликвотируйте или не замораживайте Флуоросферы AQUIOS Flow-Count иначе могут возникнуть ошибочные результаты.
3. Весь алюминий из термосклеенного уплотнения должен быть удален с

13. В случае аварийной ситуации или плохого самочувствия немедленно обратитесь к врачу (по возможности покажите этикетку).

14. Используйте только в хорошо проветриваемых помещениях.

15. Каждый флакон предназначен только для использования в проточном цитометре AQUIOS CL. Не предоставляйте ни для какого другого применения.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

ВНИМАНИЕ: После вскрытия флуоросферы AQUIOS Flow-Count должны храниться в строго вертикальном положении для предотвращения возможности утечки.

Флуоросферы AQUIOS Flow-Count стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке флакона, при хранении при температуре 2-8°C. Открытые флаконы с флуоросферами AQUIOS Flow-Count стабильны в течение 24 дней при хранении при температуре 2-8°C в отсутствие света. Сразу после использования верните реагент в условия температуры 2-8°C.

Открытый флакон стабилен в совокупности в течение 32 часов при использовании внутри системы AQUIOS. Избегайте замерзания и воздействия света. Перед использованием доведите температуру флуоросфер AQUIOS Flow-Count до 20-25°C.

ПРИЗНАКИ УХУДШЕНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК

Любое изменение физического внешнего вида флуоросфер AQUIOS Flow-Count, когда флуоросферы находятся во взвешенном состоянии (нормальный внешний вид - мутная бесцветная жидкость), или появление вторичных флуоресцентных популяций, содержащих в себе более 20% от общей популяции, может указывать на ухудшение свойств, и реагент не следует использовать.

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Обратитесь к Руководству по работе с системой конкретного продукта, если необходимо.

ПРЕДОСТАВЛЕННЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ ПРОЦЕДУРЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АБСОЛЮТНОГО КОЛИЧЕСТВА

Флуоросферы AQUIOS Flow-Count

верхней части бутылки. Остаточный алюминий вступает в реакцию с формальдегидом и может привести к изменению внешнего вида флуоросфер AQUIOS Flow-Count.

4. После вскрытия флуоросферы AQUIOS Flow-Count должны храниться в строго вертикальном положении, чтобы предотвратить возможность утечки.
5. С образцами, пробами и всеми материалами, подвергающимися воздействию, следует обращаться так, как если бы они могли передавать инфекцию, и утилизировать их с надлежащими мерами предосторожности.
6. Не используйте флуоросферы AQUIOS Flow-Count после истечения срока годности, указанного на этикетке флакона.
7. Флуоросферы AQUIOS Flow-Count будут оседать на протяжении длительного времени. Перед использованием убедитесь, что флуоросферы полностью повторно суспендированы. Избегайте чрезмерного перемешивания, чтобы свести к минимуму образование пузырьков воздуха.
8. Время инкубации или перемешивания или температуры, отличные от указанных, могут дать ошибочные результаты.
9. Не подвергайте флуоросферы AQUIOS Flow-Count воздействию яркого света во время хранения или использования.
10. Избегайте микробного загрязнения флуоросфер AQUIOS Flow-Count, иначе могут возникнуть ошибочные результаты.
11. Избегайте испарения, разливов и утечек флуоросфер AQUIOS Flow-Count и проб, иначе могут возникнуть ошибочные результаты.
12. В случае попадания в глаза немедленно промойте большим количеством воды и обратитесь к врачу.

REF B43611 - 100 тестов (1x 10 мл)

REF B52937 - 400 тестов (4 x 10 мл)

НЕОХОДИМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Лизирующий реагент AQUIOS VersaFix, PN B43019 - 50 тестов
Лизирующий реагент AQUIOS VersaFix AQUIOS, PN B43020 - 400 тестов

Пробирки для сбора крови с антикоагулянтом ЭДТА
Вихревой проточный цитометр AQUIOS CL

Для получения информации о контрольных материалах и применении реагентов обратитесь к Руководству по работе с системой конкретного продукта, если необходимо.

ПРОЦЕДУРА

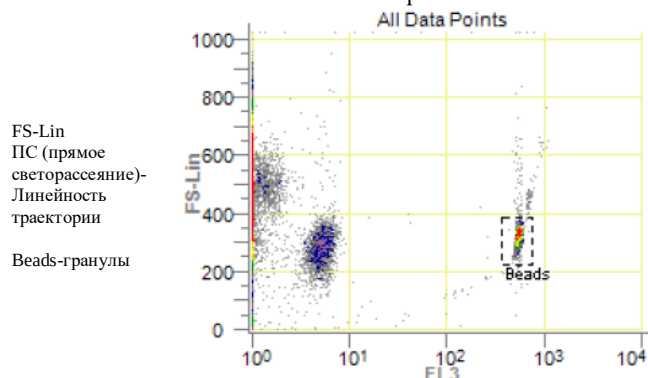
1. Доведите температуру реагента до 20-25°C. Перемешайте вихревым способом AQUIOS Flow-Count в течение 10-12 секунд. Избегайте чрезмерного перемешивания, чтобы свести к минимуму образование пузырьков воздуха.
2. Снимите крышку и алюминиевое термоуплотнение и поместите реагент внутрь проточного цитометра AQUIOS CL

За подробными инструкциями обратитесь к Руководству по работе с системой конкретного продукта, если необходимо.



Изображение 1: Ниже приведена репрезентативная гистограмма флуоросфер AQUIOS Flow-Count, проанализированных на проточном цитометре AQUIOS CL.

Все измерительные точки



КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для получения оптимальных результатов обратитесь к Руководству по работе с системой конкретного продукта, если необходимо, по поводу процедур контроля качества.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Лизирующая система ограничивается лизирующим реагентом AQUIOS VersaFix при использовании флуоросфер AQUIOS Flow-Count на системе AQUIOS.
2. Добавление органических растворителей или растворов с высокой ионной силой может привести к необратимому разбуханию или агрегирования флуоросфер AQUIOS Flow-Count.
3. Дополнительные ограничения прибора см. в руководствах по эксплуатации продукта прибора проточного цитометра
4. Дополнительные ограничения по реагентам см. в Инструкции по применению конкретного продукта (ИИ).
5. Флуоросферы AQUIOS Flow-Count ограничены только для использования с проточным цитометром AQUIOS CL.

ИЗБРАННЫЕ ССЫЛКИ

1. Рюмке К.Л. (Rümke CL.) 1995. Неточность соотношения двух процентов, наблюдаемая при дифференциальном подсчете лейкоцитов: предупреждение. Клетки крови 11:137-140.
2. Рюмке К.Л.. (Rümke CL.)1995. Неточность дифференциального подсчета лейкоцитов, полученного на основе соотношения. Клетки крови 11:311-314.
3. Кёпке Я.А. (Коерке JA) и Ландей А.Л. (Landay AL.) 1989. Прецизионность и точность абсолютного подсчета лимфоцитов. Клинический Иммунол Иммунопатол 52:19-27.
4. Мэлоун Дж.Л. (Malone JL.), Симмс Т.Е. (Simms TE), Грей Г.К (Gray GC.), Вагнер К.Ф. (Wagner KF.), Бурж ДжР (Burge JR) Берк Д.С. (Burke DS.) 1990. Источники изменчивости в повторных подсчетах Т-лимфоцитов-помощников у пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека 1 типа: Важны колебания общего количества лимфоцитов и суточного цикла. Журнал Международного общества по борьбе со СПИДом 3:144-151.

НАЛИЧИЕ ПРОДУКТА

Флуоросфеты проточного подсчета AQUIOS

REF B43611

- 100 тестов (1x 10 мл)

REF B52937

- 400 тестов (4 x 10 мл)

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter (Бекмен Культер), стилизованный логотип и упомянутые здесь знаки товаров и услуг Beckman Coulter (Бекмен Культер) являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками компании Beckman Coulter, Inc. (Бекмен Культер, Инк.) в Соединенных Штатах и других странах.

Для получения дополнительной информации или в случае получения поврежденного товара позвоните в службу поддержки клиентов Beckman Coulter (Бекмен Культер) по телефону 800-742-2345 (США или Канада) или свяжитесь с местным представителем Beckman Coulter (Бекмен Культер).

Глоссарий символов доступен по адресу beckman.com/techdocs (PN C05838)



Бекман Культер Айэленд Инк
Лисмиэн, О'Каллаганс Миллс
Округ Клэр, Ирландия
Телефон: +353-(0)65-683-1100
www.beckman.com

© 2018 Бекман Культер, Инк.

Все права защищены.

История редакций

Редакция AC, 08/2016

Были внесены изменения в:

- Предусмотренное применение
- Принцип испытания
- Отбор и подготовка образцов
- Процедура определения абсолютного количества
- Процедура
- Контроль качества

Редакция AD, 08/2017

Были внесены изменения в:

- Глоссарий символов
- Добавление новых языков

Редакция AE, 10/2018

Были внесены изменения:

- Добавление новых языков



Реагенты ClearLab

Инструкции по применению

REF B66807 — 25 тестов
REF B66808 — 25 тестов
REF B66809 — 25 тестов
REF B66810 — 25 тестов
REF B66812 — 25 тестов

Кат. № B69908-AH



Линия клеток	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7
ClearLab T1	CD2	CD56	CD7	CD5	CD45
ClearLab T2	CD8	CD4		CD3	CD45
ClearLab B1	Kappa	Lambda	CD19	CD5	CD45
ClearLab B2	CD20	CD10	CD19	CD38	CD45
ClearLab M	CD7	CD13	CD34	CD33	CD45

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ И ПОЛИКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА

IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты ClearLab предназначены для использования в диагностике in-vitro в качестве скрининговой панели для идентификации различных клеточных популяций методом иммунофенотипирования на проточном цитометре FC 500. Данные реагенты могут быть вспомогательными при дифференциальной диагностике у пациентов с гематологическими нарушениями, у которых присутствуют или предполагаются гематологическая неоплазия, в т. ч. хроническая лейкемия, острая лейкемия, неходжкинская лимфома, миелома, миелодиспластический синдром и/или миелопролиферативные неоплазмы. Реагенты могут использоваться с образцами периферической цельной крови (в пробирках с K₂EDTA, ACD или гепарином), костного мозга (в пробирках с K₂EDTA, ACD или гепарином) и лимфатических узлов для иммунофенотипирования. Результаты следует интерпретировать наряду с дополнительными данными клинических и лабораторных исследований. Данные реагенты позволяют получить количественные результаты для указанных ниже параметров:

- ClearLab T1: CD2, CD56, CD7, CD5, CD45
- ClearLab T2: CD8, CD4, CD3, CD45
- ClearLab B1: Kappa, Lambda, CD19, CD5, CD45
- ClearLab B2: CD20, CD10, CD19, CD38, CD45
- ClearLab M: CD7, CD13, CD34, CD33, CD45

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Специфические выборы и комбинации в реагентах ClearLab основаны на ведущих принципах (1) рассмотрения клинических данных, (2) учета всех основных клеточных популяций, представленных в образце, и (3) предоставления достаточно обстоятельной идентификации всех основных категорий популяций гематологических клеток в нормальном состоянии и при опухолевом состоянии.¹⁻⁷

CD45 — панлейкоцитарный антиген с разной экспрессией на разных популяциях лейкоцитов. В сочетании с боковым рассеянием CD45 используют для определения селекторов отдельных популяций для идентификации специфичных для линий клеток антигенов. CD45 используют как общий реагент селекции во всех реагентах ClearLab для возможности корреляции анализов из всех пробирок.¹

Антиген CD45 экспрессируется на всех типах гемопоэтических клеток, за исключением зрелых эритроцитов и их непосредственных предшественников. Он не был выявлен в дифференцированной негемопоэтической ткани.

Характеристики Т- и НК-клеток:

Представляется, что поверхностные клеточные антигены Т-лимфоциты появляются и исчезают в зависимости от степени зрелости (дифференцировки) и/или функционального состояния клетки. После появления одна и та же клетка может экспрессировать часть или все эти антигены в течение различных периодов времени.

Антиген CD2 является ранним, специфичным ко всем линиям Т-клеток поверхностным антигеном, и обычно присутствует на некоторых протимоцитах костного мозга, на более чем 95% тимоцитах, на всех периферических Т-лимфоцитах и на субпопуляции клеток натуральных киллеров. После начала экспрессии антиген CD2 постоянно экспрессируется на протяжении всего периода дифференцировки Т-лимфоцитов. Антиген CD2 не обнаруживается на В-лимфоцитах, моноцитах, гранулоцитах или тромбоцитах периферической крови.

Антиген CD3 обычно присутствует на поверхности зрелых тимоцитов, а также неактивных и активированных Т лимфоцитов периферической крови (как относящихся к популяции индукторов, так и к популяции супрессоров/цитотоксических клеток).



Антиген CD4 присутствует на тимоцитах и индуцирующей популяции Т-лимфоцитов в периферической крови. В небольших количествах он также экспрессируется на моноцитах.

Антиген CD5 присутствует на всех зрелых Т-лимфоцитах и на большинстве тимоцитов. CD5 также присутствует на подгруппе В-лимфоцитов, но не был обнаружен на гранулоцитах или моноцитах.

Антиген CD7 обнаружен на тимоцитах и на большинстве Т-лимфоцитов периферической крови. Он также экспрессируется на большинстве NK-клеток, субпопуляции пре-В лимфоцитов, на В-лимфоцитах из эмбрионального костного мозга и на полипотентных гематопозитических стволовых клетках.

Антиген CD8 обычно присутствует приблизительно на 80% тимоцитов и примерно на 30–35% Т-лимфоцитов периферической крови, а также на некоторых естественных киллерах.

Антиген CD56 экспрессируется на субпопуляции лимфоцитов, демонстрирующих активность естественных клеток-киллеров (NK-клеток). Практически все клетки периферической крови, способные осуществлять цитотоксичность не TCR-типа, экспрессируют молекулу CD56. Эта популяция включает в себя NK-клетки (CD3-/CD56+) и небольшую часть Т-клеток (CD3+/CD56+). CD56 не экспрессируется на других популяциях Т- или В-лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов и эритроцитов.

Характеристики В-клеток и каппа и лямбда:

Представляется, что поверхностные клеточные антигены В-лимфоцитов появляются и исчезают в зависимости от степени зрелости (дифференцировки) и/или функционального состояния клетки. После появления одна и та же клетка может экспрессировать часть или все эти антигены в течение различных периодов времени.

Экспрессия В-лимфоцитами поверхностных антигенов, специфичных для всех В-клеток, происходит в следующем порядке: CD19 (коммитированный предшественник В-клеток/пре-пре-В-клетка); CD20 (ранняя пре-В-клетка). После начала экспрессии антигены CD19 и CD20 постоянно ко-экспрессируются на протяжении всего оставшегося периода дифференцировки В-лимфоцита, включая периоды покоя и активации зрелого В-лимфоцита периферической крови или лимфоидной ткани. Оба антигена теряются на последней стадии дифференцировки В-лимфоцита, стадии плазматической клетки.

Антиген каппа экспрессируется на поверхности субпопуляции приблизительно от половины до двух третей зрелых В-клеток в периферической крови. Эта легкая цепь также найдена на поверхности субпопуляции незрелых В-лимфоцитов костного мозга.

Антиген лямбда экспрессируется на поверхности субпопуляции приблизительно от двух третей до половины зрелых В-клеток в периферической крови. Эта легкая цепь также найдена на поверхности субпопуляции незрелых В-лимфоцитов костного мозга.

Антиген CD5 присутствует на всех зрелых Т-лимфоцитах и на большинстве тимоцитов. CD5 также присутствует на подгруппе В-лимфоцитов, но не был обнаружен на гранулоцитах или моноцитах.

Антиген CD10 экспрессируется на неприсоединенных лимфоидных предшественниках. Экспрессия CD10 прекращается, как только клетки входят в Т-линию. В В-линии экспрессия CD10 прекращается позднее в онтогенезе, когда клетки приобретают экспрессию поверхностного иммуноглобулина. Он также экспрессируется на активированных и пролиферирующих В-клетках в зародышевом центре и на нейтрофилах, а также на стромальных клетках костного мозга. Кроме того, он экспрессируется на других многочисленных клетках эпителиального происхождения.

Антиген CD19 экспрессируется на всех В клетках, включая ранние клетки-предшественники В клеток. Также этот антиген может присутствовать на фолликулярных дендритических клетках и клетках-предшественниках миеломоноцитарной линии, но отсутствует на Т-клетках, моноцитах и гранулоцитах.

Антиген CD20 присутствует на всех нормальных В-лимфоцитах из периферической крови, лимфатических узлов, селезенки, миндалин и костного мозга, но отсутствует в клетках плазмы. Он экспрессируется естественным образом, но в небольших количествах, на подгруппе Т-лимфоцитов периферической крови.

CD38 экспрессируется по-разному на В-лимфоцитах во время созревания. Экспрессия антигена CD38 проявляется на ранних этапах, исчезает во время созревания В-клеток и проявляется снова на окончательном этапе дифференциации (этап плазматической клетки). Молекула CD38 также экспрессируется активированными лимфоцитами Т- и В-клеток, моноцитами, большинством NK-клетками, медуллярными тимоцитами,⁹ тромбоцитами и эритроцитами.

Характеристики миелоидных клеток:

Представляется, что поверхностные клеточные антигены клеток миелоидной линии появляются и исчезают в зависимости от степени зрелости (дифференцировки) и/или функционального состояния клетки. После появления одна и та же клетка может экспрессировать часть или все эти антигены в течение различных периодов времени.

Антиген CD34 экспрессируется на гематопозитических клетках-предшественниках всех линий, и также на полипотенциальных стволовых клетках. Антиген CD34 экспрессируется с самой высокой концентрацией на наиболее примитивных стволовых клетках и его концентрация постепенно понижается при дифференциации коммитированных клеток-предшественников линии. Антиген CD34 также присутствует на капиллярных эндотелиальных клетках и на стромальных клетках костного мозга.



Антиген CD13 найден на большинстве клеток миелоидного происхождения, включая нейтрофилы, эозинофилы, базофилы и моноциты нормальной периферической крови. Он отсутствует на лимфоцитах, а также на эритроцитах и тромбоцитах. Эта молекула обнаружена на поверхности коммитированных клеток-предшественников, получивших определение как гранулоцит-моноцитные колониеобразующие единицы (GM-CFU) в нормальном костном мозге.

Антиген CD33 интенсивно экспрессируется на моноцитах периферической крови и слабо экспрессируется на циркулирующих гранулоцитах. Он найден в костном мозге на гематопозитических клетках-предшественниках миеломоноцитарной и эритроидной линии, но он отсутствует на клетках лимфоидного происхождения.

Антиген CD7 обнаружен на тимоцитах и на большинстве Т-лимфоцитов периферической крови. Он также экспрессируется на большинстве NK-клеток, субпопуляции пре-В лимфоцитов, на В-лимфоцитах из эмбрионального костного мозга и на полипотентных гематопозитических стволовых клетках. Зрелые В-лимфоциты, клетки эритроцитарной, миелоидной и мегакариоцитарной линии, обычно не экспрессируют CD7. CD7 может экспрессироваться аномальным путем во многих случаях преждевременной острой миелоидной лейкемии.

ПРИНЦИПЫ ТЕСТА

Этот тест основан на способности моноклональных и поликлональных антител связываться с поверхностью клеток, экспрессирующих отдельные антигенные детерминанты. Специфическое окрашивание клеток осуществляется путем инкубации подготовленных для окрашивания образцов с подходящим реагентом, содержащим антитела. Реагенты ClearLab состоят из пяти комбинаций, каждая из которых содержит четыре или пять реагентов с моноклональными или поликлональными антителами, где каждое антитело конъюгировано со специфичным флуорохромом и специфично для различных поверхностных клеточных антигенов. После приготовления пробы образцы анализируют на проточном цитометре с ручной селекцией.

Лизис эритроцитов выполняется с помощью VersaLyse Lysing Solution (лизирующий раствор). Оставшиеся в пробе лейкоциты анализируются методом проточной цитометрии с использованием подходящей комбинации селекторов субпопуляции. На первой гистограмме селекторы популяции идентифицируются на основании комбинации характеристик интенсивности флуоресценции CD45+ и бокового рассеяния (SS).

Двухпараметрическая гистограмма, использующая селектор отобранных популяций CD45/бокового рассеяния, используется для определения процентного содержания положительно окрашенных клеток для каждого поверхностного антигена, распознаваемого антителами из набора.

РЕАГЕНТЫ

Следующие многоцветные реагенты поставляются в комплектах реагентов ClearLab:

- ClearLab T1: CD2-FITC/CD56-PE/CD7-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7
- ClearLab T2: CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7
- ClearLab B1: Kappa-FITC/Lambda-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7
- ClearLab B2: CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD38-PC5.5/CD45-PC7
- ClearLab M: CD7-FITC/CD13-PE/CD34-ECD/CD33-PC5.5/CD45-PC7

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Концентрация реагентов, не являющихся антителами, составляет: 0,2% BSA, 0,01 М фосфата калия, 0,15 М NaCl, 0,1% NaN₃ и стабилизаторы.

Показания: не применимо.

Противопоказания: не применимо.

Побочные эффекты: не применимо.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

Иодоацетамид <0,1%
Может вызывать аллергическую реакцию.
 Паспорт безопасности доступен на веб-сайте beckman.com/techdocs .

1. Эти реагенты содержат 0,1% азиды натрия. В кислой среде из азиды натрия образуется азотистоводородная кислота, крайне токсичное соединение. При утилизации азидные соединения должны смываться проточной водой. Для избежания отложения материалов в металлических трубах, в результате чего может возникнуть угроза взрыва, рекомендуется соблюдать эту меру предосторожности. При попадании в глаза или на кожу тщательно промойте водой.
2. С образцами, пробами и всеми контактирующими с ними материалами следует обращаться как с потенциально передающими инфекционные заболевания и утилизировать их с соблюдением соответствующих мер предосторожности.
3. Ни в коем случае не пипетируйте ртом и избегайте попадания на кожу и слизистые оболочки.
4. Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на этикетке флакона.
5. При хранении или инкубации сведите к минимуму воздействие света на реагенты.



6. Избегайте микробного загрязнения реагента, в противном случае возможно получение ошибочных результатов.
7. При работе с реагентом следуйте принципам надлежащей лабораторной практики (GLP).
8. Перед составлением отчета о результатах просматривайте все гистограммы.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Невскрытый реагент стабилен до истечения срока годности при хранении при температуре 2–8°C. Открытые флаконы стабильны 90 дней при хранении при температуре 2–8°C. Доведите реагент до температуры 2–8°C сразу после использования. Не замораживать. Минимизируйте воздействие света.

- Транспортирование реагентов должно проводиться любыми видами транспорта с соблюдением условий хранения.
- Хранение реагентов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от +2°C до +8°C в защищенном от света месте.
- Срок годности указан на упаковке изделий и составляет 12 месяцев от даты производства.

ПРИЗНАКИ РАЗРУШЕНИЯ

Любые изменения физических свойств данного реагента (обычно это прозрачная розовая жидкость) или любые серьезные отклонения в показаниях, полученных для контрольных проб, могут свидетельствовать о разрушении; в этом случае реагент использовать нельзя.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Подготовки не требуется. Реагенты ClearLLab используют непосредственно из флакона. Доведите реагент до температуры 20–25°C перед использованием.

СБОР ОБРАЗЦОВ

- Для каждого анализа методом проточной цитометрии требуется 100 µL цельной крови, костного мозга или моноклональной суспензии лимфоцитарных клеток.
- Избегайте попадания крови на верхнюю и боковые части тестовых пробирок; в противном случае лизис может быть неполным.
- Окрашивание можно провести на образцах с количеством лейкоцитов в диапазоне 2–20 x 10³ клеток/µL.
- При количестве лейкоцитов более 20 x 10³ клеток/µL необходимо разбавить образец.
- При количестве лейкоцитов ниже 2 x 10³ клеток/µL необходимо провести центрифугирование и повторно получить суспензию для концентрации перед приготовлением пробы.
- Пробы цельной крови могут быть получены с использованием подходящего для образца антикоагулянта K₂EDTA, гепарина или ACD.
- Пробы костного мозга могут быть получены с использованием подходящего для образца антикоагулянта K₂EDTA, гепарина или ACD.
- Подробнее об особенностях сбора крови методом венепункции и интерферирующих условиях см. документ «Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture (H3), Approved Edition» (Процедуры сбора образцов крови для диагностики методом венепункции (H3), одобренное издание), опубликованный Институтом клинических и лабораторных стандартов.

ПРОЦЕДУРА ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ОКРАШИВАНИЯ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТКИ С ПОМОЩЬЮ РЕАГЕНТОВ CLEARLLAB С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ И ПОЛИКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ClearLLab T1: CD2-FITC/CD56-PE/CD7-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66807

ClearLLab T2: CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66808

ClearLLab B1: Kappa-FITC/Lambda-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66809

ClearLLab B2: CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD38-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66810

ClearLLab M: CD7-FITC/CD13-PE/CD34-ECD/CD33-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66812

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

VersaLyse Lysing Solution (лизирующий раствор), кат. № A09777

ЮTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор), кат. № A07800

Набор QuickComp 4, кат. № 177017

CD45-PC5.5, кат. № A62835

CD45-PC7, кат. № IM3548

Пробирки для сбора крови с антикоагулянтом
(рекомендуется K₂EDTA, ACD или гепарин)

Инактивированная нагреванием сыворотка эмбрионов крупного рогатого скота



Физиологический раствор с фосфатным буфером (PBS), кат. № 6603369

Мышиная сыворотка

Переносящие пипетки

Пипетка Пастера

Микропипетки

Вращательная мешалка

Проточный цитометр

Счётчик клеток или гемацитометр

Комплект фильтров для одноканального лазера, только для проточного цитометра Cytomics FC 500, кат. № 179044

ИЛИ

Узел модуля фильтров для одноканального лазера, только для проточного цитометра Cytomics FC 500, кат. № 179045

Флуоросферы Flow-Check Pro, кат. № A63493

Флуоросферы Flow-Set Pro, кат. № A63492

Аппликаторы с ватными наконечниками

ПРОЦЕДУРА

Приготовление реагентов

- PBS/2% промывной буфер сыворотки эмбриона крупного рогатого (FCS):**
 - Приготовьте раствор PBS с 2% инактивированной нагреванием FCS для использования в качестве промывного буфера (1:50 объем к объему FCS/PBS).
- Смесь «Fix-and-Lyse»:**
 - Приготовьте смесь «Fix-and-Lyse» (1 mL смеси на пробирку), добавив 25 μ L НЕРАЗБАВЛЕННОГО IOTest 3 10X Fixative Solution (фиксирующий раствор) к 1 mL VersaLyse Lysing Solution (лизирующий раствор).
 - Перемешайте смесь в течение 3–5 секунд.
 - После приготовления храните смесь при комнатной температуре максимум 5 дней.
- Буфер для повторного получения суспензии с 0,1% формальдегида в PBS:**
 - Приготовьте достаточный объем буфера для повторного получения суспензии с 0,1% формальдегида в PBS, растворив 12,5 μ L IOTest 3 Fixative Solution (фиксирующий раствор) с концентрацией 10X в 1 mL PBS.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Как образцы крови, так и образцы костного мозга должны быть предварительно промыты перед приготовлением образцов, чтобы избежать интерференции белка плазмы/сыворотки, для обеспечения единой методологии приготовления, используемой со всеми реагентами ClearLab. Оптимальная эффективность промывки достигается тремя последовательными этапами промывки с использованием по меньшей мере на 10 частей больше промывного буфера на каждом этапе. Исходя из рабочего процесса отдельной лаборатории, образцы можно промывать, следуя процедуре промывки группы пробирок или одиночных пробирок.

ПРИМЕЧАНИЕ. Моноклональная суспензия, приготовленная из лимфоидных тканей, не требует промывки перед окрашиванием. В случае отсутствия промывки для удаления остаточных растворимых белков или, в случае получения повторной суспензии из буфера, содержащего человеческую сыворотку или белки сыворотки, необходимо осуществить предварительную промывку. Следуйте процедуре промывки, принятой в лаборатории.

ПРИМЕЧАНИЕ. Чтобы дополнительно уменьшить неспецифичное связывание через Fc-фрагмент, можно использовать раствор PBS/50% мышиной сыворотки (50:50 объем к объему инактивированной нагреванием мышиной сыворотки/PBS) в качестве буфера для повторного получения суспензии.

ВНИМАНИЕ! Несоблюдение инструкций по промывке (объемы и циклы промывки) может привести к получению ошибочных результатов.

Процедура промывки группы пробирок

- Приготовьте раствор PBS с 2% инактивированной нагреванием сывороткой эмбрионов крупного рогатого скота для использования в качестве промывного буфера. (1:50 объем к объему FCS/PBS)
- Подсчитайте лейкоциты в образце.
- Добавьте 1,0 mL образца в коническую центрифужную пробирку объемом 15 mL.
- Добавьте 9,0 mL промывного буфера PBS/2% FCS. Перемешайте аккуратным переворачиванием.
- Центрифугируйте при 150 x g в течение 10 минут.
- Аспирируйте и удалите супернатант.
- Повторите действия 4–6 еще два раза.
- Повторно получите суспензию промытого осадка в PBS/2%FCS или PBS/50% мышиной сыворотки до первоначального объема 1 mL, если количество лейкоцитов находилось в подлежащем регистрации диапазоне ($2\text{--}20 \times 10^3$ клеток/ μ L), или как требуется. Можно использовать PBS/50% мышиной сыворотки, чтобы свести к минимуму неспецифичное связывание через Fc-фрагмент.



Процедура промывки одиночных пробирок

1. Приготовьте раствор PBS с 2% инактивированной нагреванием сывороткой эмбрионов крупного рогатого скота для использования в качестве промывного буфера (1:50 объем к объему FCS/PBS).
2. Подсчитайте лейкоциты в образце.
 - a. Если количество лейкоцитов превышает 20×10^3 клеток/ μL , разбавьте образец соответствующим образом промывным буфером PBS/2% FCS.
 - b. Если количество лейкоцитов $< 2 \times 10^3$ клеток/ μL , образец необходимо сконцентрировать перед промывкой.
3. Для каждого образца: добавьте 100 μL образца цельной крови или костного мозга в две тестовые пробирки размером 12 x 75 mm, помеченные для каждого реагента ClearLLab.
4. Добавьте 3,0 mL промывного буфера PBS/2% FCS. Перемешайте аккуратным переворачиванием.
5. Центрифугируйте при 1000 x g в течение 2 минут.
6. Аспирируйте и удалите супернатант.
7. Повторите действия 4–6 еще два раза.
8. Повторно получите суспензию промытого осадка в PBS/2%FCS или PBS/50% мышинной сыворотки до первоначального объема 100 μL .

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ

1. Для каждого образца, предварительно промытого в соответствии с процедурой промывки группы пробирок, и для моноклональных суспензий лимфоидных тканей пометьте по одной тестовой пробирке размером 12 x 75 mm для каждого реагента ClearLLab. Для образцов, предварительно промытых в соответствии с процедурой промывки одиночных пробирок, перейдите к этапу 3.
2. Добавьте 100 μL образца в каждую тестовую пробирку. Соблюдайте осторожность, чтобы избежать попадания крови на верхнюю и боковые части пробирок; в противном случае лизис может быть неполным.
3. Добавьте 20 μL ClearLLab T1 CD2-FITC/CD56-PE/CD7-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7, ClearLLab T2 CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7, ClearLLab B1 Kappa-FITC/Lambda-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7, ClearLLab B2 CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 или ClearLLab M CD7-FITC/CD13-PE/CD34-ECD/CD33-PC5.5/CD45-PC7 в соответствующую помеченную тестовую пробирку.
4. Осторожно перемешайте на вортексе. Инкубируйте реактивные смеси при 20–25°C в течение 15–20 минут, защищая от света.

ВАЖНО! Если возле горловины тестовой пробирки остались капли крови, их следует удалить, в противном случае нелизированные эритроциты могут загрязнить готовый образец и стать причиной искажения результатов. Для удаления капель можно использовать ватную палочку.

5. Выполните лизирование эритроцитов в каждой тестовой пробирке, руководствуясь методикой фиксации VersaLyse + IOTest 3 (подробное описание процедуры «Fix and Lyse» см. в инструкциях по использованию VersaLyse).

ПРИМЕЧАНИЕ. Моноклональные суспензии из лимфоидных тканей не нуждаются в лизисе эритроцитов. Перейдите к пункту 6.

- a. Добавьте 1 mL смеси «Fix-and-Lyse» в каждую тестовую пробирку и немедленно перемешайте в течение 1 секунды.
- b. Инкубируйте, как минимум, в течение 10 минут при комнатной температуре (20–25°C), защищая от света.
- c. Центрифугируйте в течение 5 минут при 150 x g, при комнатной температуре.
- d. Удалите супернатант с помощью аспирации.
- e. Повторно получите суспензию дебриса в 3 mL PBS.
- f. Центрифугируйте в течение 5 минут при 150 x g, при комнатной температуре.
- g. Удалите супернатант с помощью аспирации и повторно получите суспензию дебриса в 0,5 mL буфера с 0,1% формальдегида в PBS.

ПРИМЕЧАНИЕ. Для снижения до минимума возможности субоптимальных результатов см. условия хранения пробы в разделе «Ограничения».

6. По завершении лизирования промойте все пробы (крови, костного мозга и моноклональных суспензий) и повторно получите суспензию клеток в 0,5 mL PBS с 0,1% формальдегида согласно инструкциям по использованию VersaLyse.
7. Проанализируйте клетки на проточном цитометре, правильно стандартизованном и с выполненной селекцией для каждой интересующей популяции. Ниже описана рекомендуемая ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА ПРОБЫ. Чтобы свести к минимуму возможность получения результатов ниже оптимальных, анализируйте окрашенные клетки немедленно.
 - a. Значения флуоресценции проточной цитометрии необходимо регистрировать на логарифмической шкале.
 - b. Боковое рассеяние (SS) можно регистрировать на линейной или логарифмической шкале.
 - c. Прямое рассеяние (FS) необходимо регистрировать на линейной шкале.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Убедитесь, что проточный цитометр правильно выровнен и стандартизован для значения рассеяния света и флуоресценции в соответствии с рекомендациями производителя (инструкции по настройке значений напряжения ФЭУ см. в руководстве по эксплуатации прибора FC 500).



- a. Проанализируйте флуоросферы Flow-Check Pro, чтобы проверить выравнивание прибора (см. инструкции по использованию продукта).
- b. Ежедневно используйте флуоросферы Flow-Set Pro для установки целевых диапазонов, высокого напряжения (ВН) и усиления (см. инструкции по использованию препарата и таблицу настроек целевых значений приложения).
2. Флуорохромный флуоресцеин изотиацианат (FITC), фикоэритрин (PE), фикоэритрин-Texas Red-X (ECD), фикоэритрин-Cy5.5 (PC5.5) и фикоэритрин-Cy7 (PC7) излучают свет на разных длинах волн, но при этом возникает наложение спектров, которое нужно корректировать методом электронной компенсации.
 - a. Первоначальные уровни компенсации можно установить с помощью нормального образца донорской крови, приготовленного с использованием по 20 μ L каждого из реагентов CD45-FITC, CD45-PE и CD45-ECD из реагентов QuickCOMP 4 и по 10 μ L каждого из реагентов CD45-PC5.5 и CD45-PC7, используя полную матричную компенсацию, такую как программа AutoSetup в программном обеспечении CXP.
 - b. Уровни компенсации можно установить другим способом, путем анализа на двухпараметрической гистограмме нормальных клеток донорской крови, окрашенных взаимоисключающими моноклональными антителами, конъюгированными с соответствующими флуорохромами. Проводится корректировка, чтобы удостовериться в том, что не происходит окрашивания в двухцветном квадранте каким-либо отдельным флуорохромом.
3. Перед началом анализа проб образец нормальной крови, окрашенный реагентами ClearLLab, следует окрасить для проверки компенсации и реактивности антител. Во время проверки необходимо осуществить ручную настройку на показатели первоначальной компенсации и использовать их для тестирования образцов пациентов.
4. Влияние специфичных и/или неспецифичных антител, связывающихся с моноцитами и гранулоцитами в пробе через Fc-фрагмент, можно свести к минимуму, получив повторную суспензию предварительно промытых образцов в 50% мышиной сыворотки до окрашивания. (Подробные сведения см. в разделах «Приготовление образцов», пункт 8.)
5. Отрицательно окрашенные популяции можно использовать для установки курсора.⁸

МЕТОД ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ/ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

ВНИМАНИЕ! Если лазер проточного цитометра смещен, установлены неправильные фильтры или если селекторы были установлены неправильно, результаты могут оказаться ошибочными.

1. Проанализируйте флуоросферы Flow-Check Pro, чтобы проверить выравнивание прибора согласно инструкциям по использованию препарата.
2. Установите целевые каналы и диапазоны HV и усиления, используя флуоросферы Flow-Set Pro согласно инструкциям по использованию препарата.
3. Настройте компенсацию, используя подходящие реагенты и методы.
4. Создайте соответствующие протоколы анализа, чтобы определить селекторы популяций и серии двухпараметрических гистограмм для анализа специфичности реагента.
5. Зарегистрируйте, как минимум, 50 000 событий. Область остановки подсчета может быть установлена из двухпараметрической гистограммы зависимости CD45-PC7 (FL5 LOG) от SS (90° LS) (селектор E).
6. Зарегистрируйте двухпараметрическую гистограмму зависимости CD45-PC7 (FL5 LOG) от SS (90° LS). В образцах цельной крови и костного мозга могут присутствовать три или более отдельных популяции; одна популяция обычно присутствует в клеточных суспензиях лимфоидных тканей (см. пример на рисунке 1a). Обведите селекторы вокруг интересующих популяций лейкоцитов, исходя из характеристик флуоресценции CD45+ PC7 и SS (см. пример на рисунке 1b).

Рисунок 1а. Двухпараметрическая гистограмма зависимости CD45-PC7 (FL5 LOG) от бокового рассеяния образца лимфатического узла для определения лимфоцитов (селектор А), моноцитов (селектор В) и гранулоцитов (селектор С), а также для определения области остановки подсчета (селектор Е).

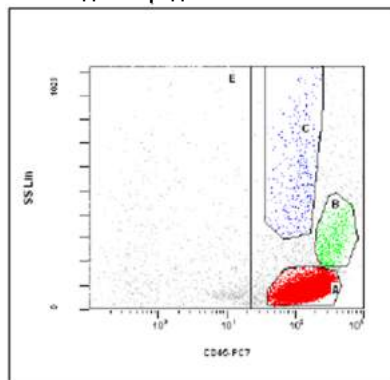
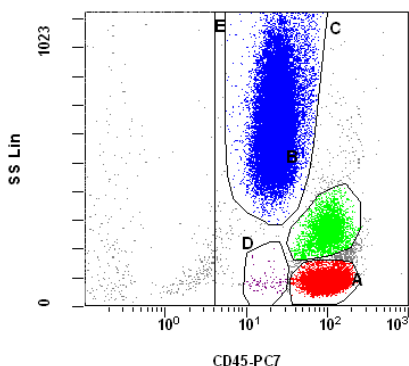
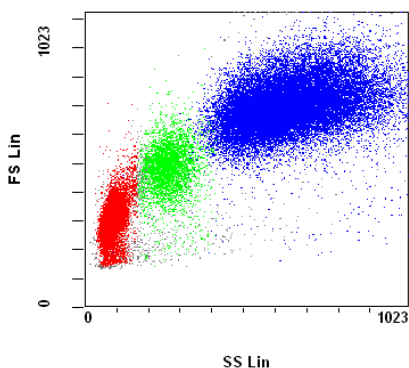


Рисунок 1б. Двухпараметрическая гистограмма зависимости CD45-PC7 (FL5 LOG) от бокового рассеяния образца цельной крови для определения лимфоцитов (селектор А), моноцитов (селектор В), гранулоцитов (селектор С) и клеток CD45^{слабый}/SS^{низкий} (селектор D), а также для определения области остановки подсчета (селектор Е).



7. Можно также зарегистрировать гистограмму зависимости прямого рассеяния (FS) от бокового рассеяния (SS) для оценки характеристик рассеяния приготовленного образца.

Рис. 2. Гистограмма определения прямого рассеяния и бокового рассеяния



8. Для каждого реагента ClearLLab создайте серии двухпараметрических гистограмм с использованием селектора соответствующих популяций, созданных на рисунке 1 выше. Выполните перечисленные ниже пункты для каждой из пробирок с определенным реагентом ClearLLab.

- Log FL1 относительно Log FL2
- Log FL1 относительно Log FL3
- Log FL1 относительно Log FL4
- Log FL2 относительно Log FL3
- Log FL2 относительно Log FL4
- Log FL3 относительно Log FL4

ClearLLab T1 CD2-FITC/CD56-PE/CD7-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 или ClearLLab T2 CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7:

- Создайте двухпараметрические гистограммы с использованием селектора соответствующих популяций, созданных на рисунке 1, для подсчета CD2⁺, CD56⁺, CD7⁺ и CD5⁺ (см. рисунки 3а–3ф).
- В таблице ниже приведены квадранты и гистограммы, используемые для подсчета каждой популяции.

Популяция	Квадранты	Рисунок гистограммы	
		Селектор LY	Селектор CD45 ^{слабый} /SS ^{низкий}
CD2 ⁺	2 + 4	3b	3e
CD56 ⁺	2 + 4	3c	3f
CD7 ⁺	1 + 2	3a	3d
CD5 ⁺	1 + 2	3b	3e



3. ClearLLab T2 CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7:

- Создайте двухпараметрические гистограммы с использованием селектора соответствующих популяций, созданных на рисунке 1, для подсчета CD3+CD8+, CD3+CD4+ и CD3+ (см. рисунки 4а и 4b).
- В таблице ниже приведены квадранты и гистограммы, используемые для подсчета каждой популяции.

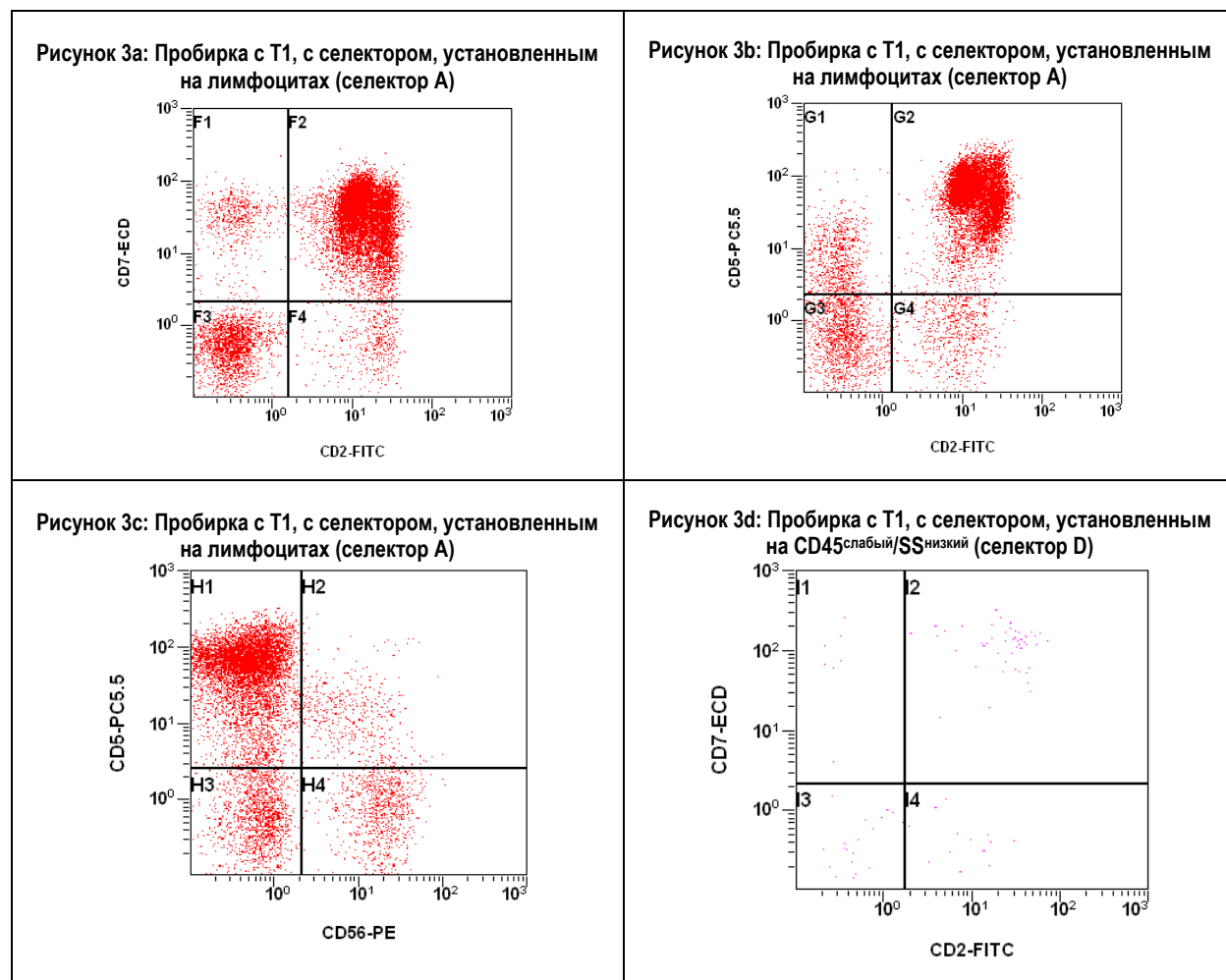
Популяция	Квадрант(-ы)	Рисунок гистограммы
		Селектор LY
CD3+CD8+	2	4а
CD3+CD4+	2	4b
CD3+	2 + 4	4а

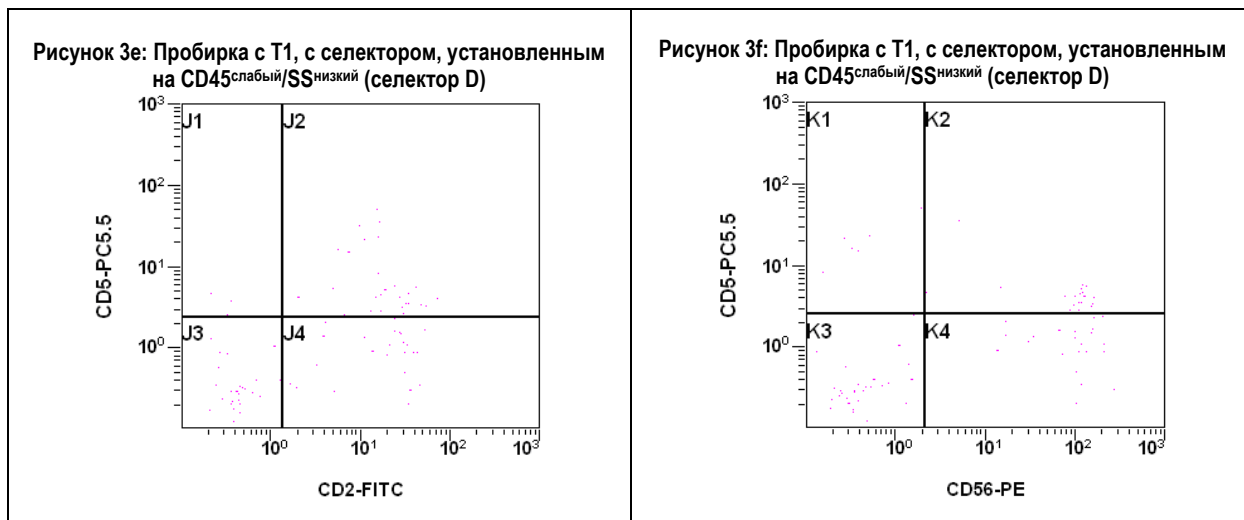
- Используйте отрицательно окрашенные популяции для установки положительных границ квадранта или региона (см. рисунки 3 и 4).

Рисунки 3–5. Типичные примеры двухпараметрических гистограмм для нормальной пробы периферической крови с использованием селектора лимфоцитов для реагентов ClearLLab T1 CD2-FITC/CD56-PE/CD7-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 или ClearLLab T2 CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7.

ПРИМЕЧАНИЕ. Показаны не все гистограммы.

Рисунки 3а–3f: Двухпараметрические гистограммы зависимости CD2-FITC от CD7-ECD, CD2-FITC от CD5-PC5.5 и CD56-PE от CD5-PC5.5 для нормальной пробы периферической крови.





Рисунки 4а–4б: Двухпараметрические гистограммы зависимости CD3-PC5.5 от CD8-FITC и CD3-PC5.5 от CD4-PE для нормальной пробы периферической крови.

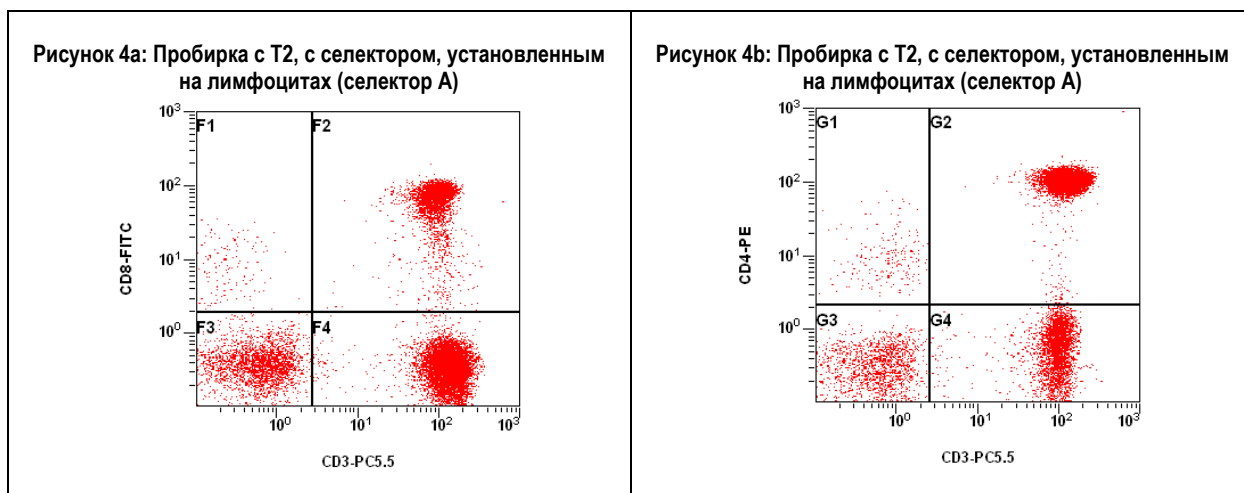
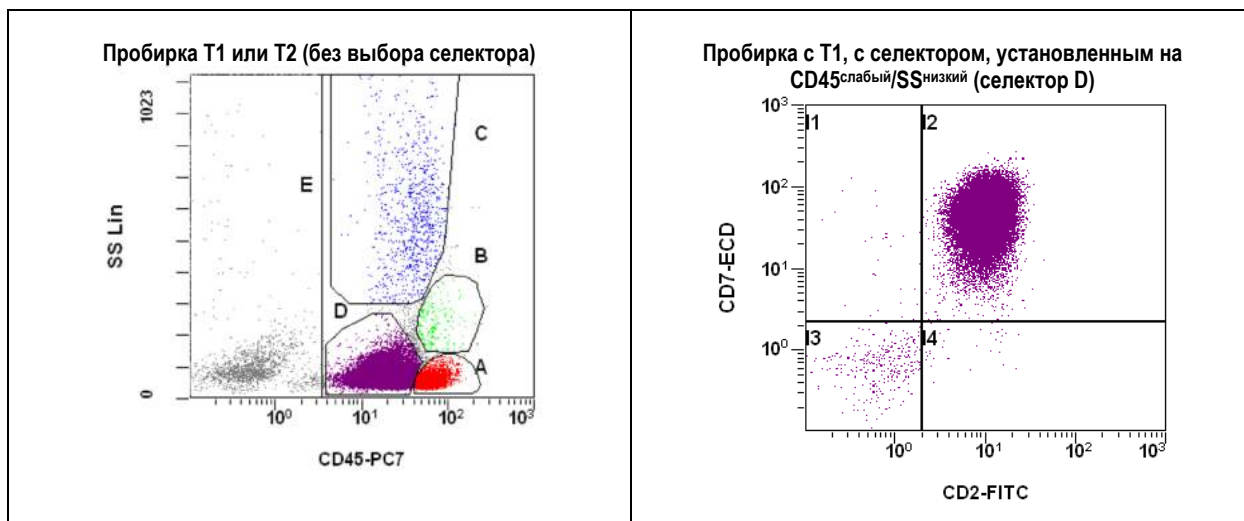


Рис. 5. Типичные примеры двухпараметрических гистограмм для реагентов ClearLLab T1 и T2, полученных на образце предшественников Т-клеток костного мозга при лимфобластной лейкемии/лимфоме (LL/LBL).



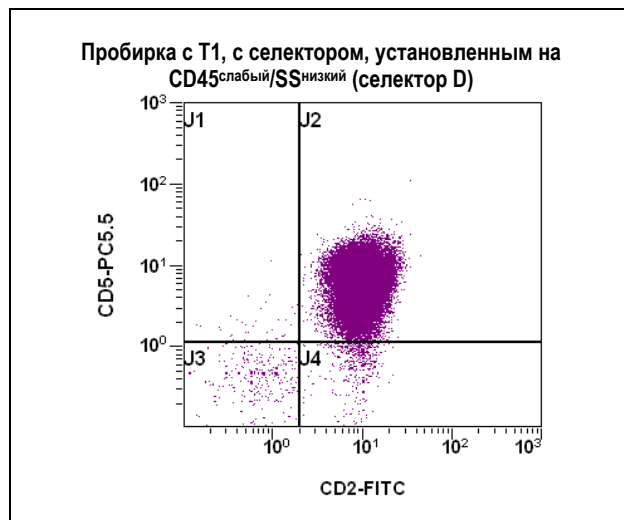
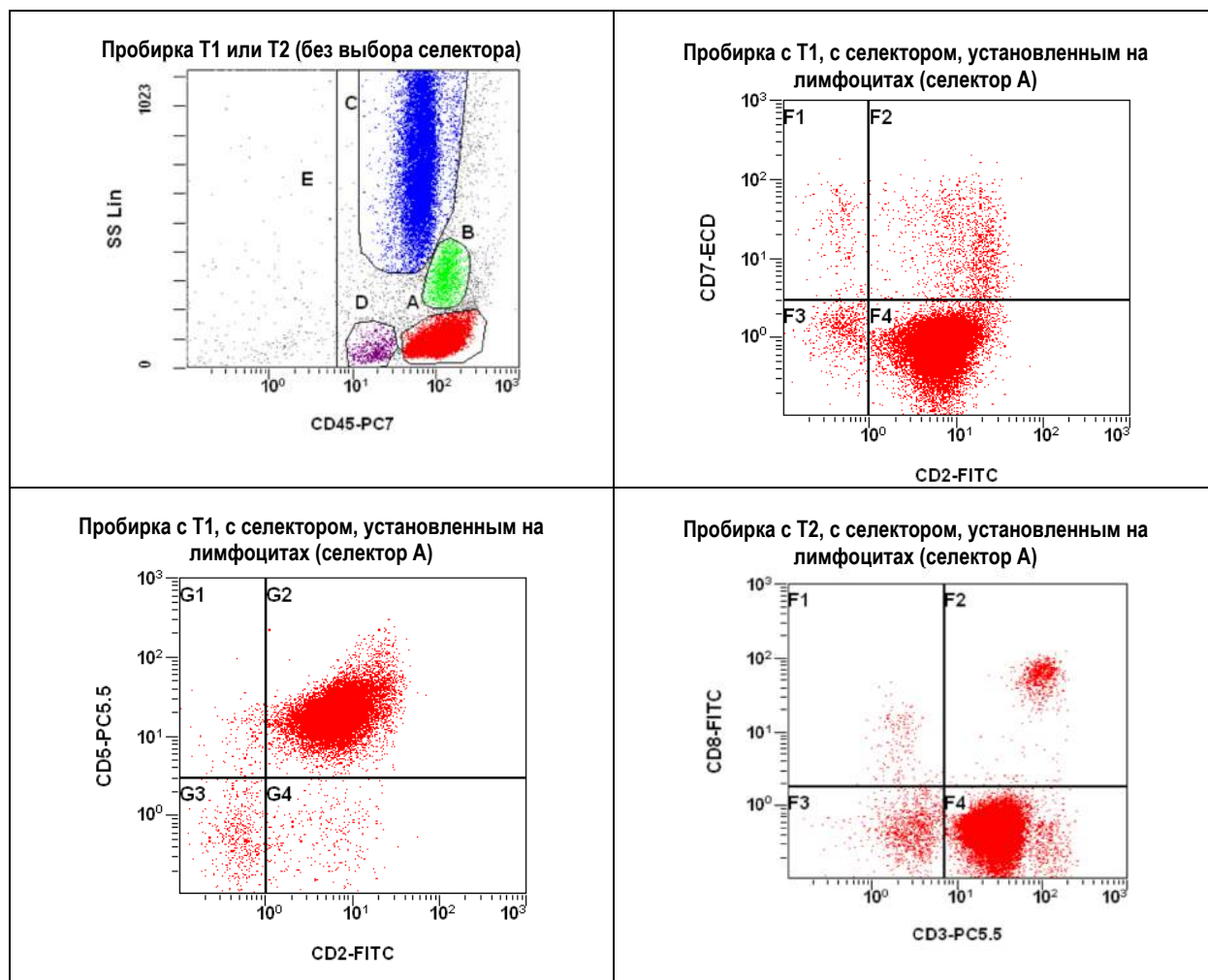
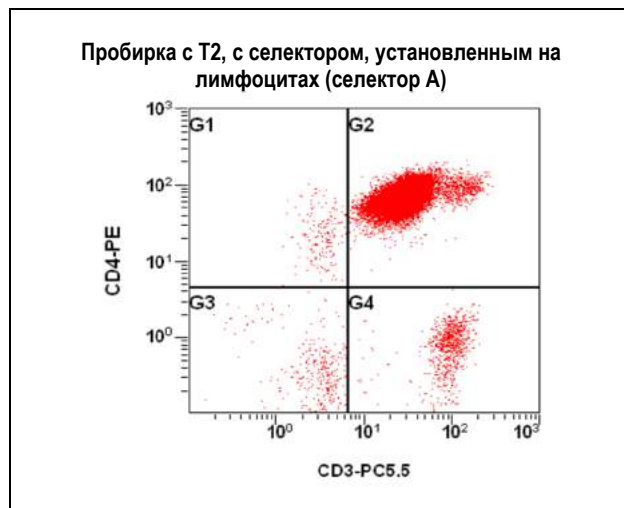


Рис. 6. Типичные примеры двухпараметрических гистограмм для реагентов ClearLLab T1 и T2, полученных на пробе зрелых Т-клеток периферической крови при неоплазме.

ПРИМЕЧАНИЕ. Показаны не все двухпараметрические гистограммы.





ClearLLab B1 Kappa-FITC/Lambda-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 и ClearLLab B2 CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD38-PC5.5/CD45-PC7:

- Создайте две двухпараметрические гистограммы для экспрессии легких каппа+ и лямбда+ цепей иммуноглобулина (Ig) (см. рисунки 7 и 8). В таблице ниже приведены регионы и гистограммы, используемые для подсчета каждой популяции.

Популяция	Область	Рисунок гистограммы
CD19+Kappa+	G	8
CD19+Lambda+	H	8

- Создайте двухпараметрические гистограммы с использованием селектора соответствующих популяций, созданных на рисунке 1, для подсчета CD19+ и CD5+ (см. рисунки 9а и 9b). В таблице ниже приведены квадранты и гистограммы, используемые для подсчета каждой популяции.

Популяция	Квадранты	Рисунок гистограммы	
		Селектор LY	Селектор CD45слабый/SSнизкий
CD19+	1 + 2	9а	9b
CD5+	2 + 4	9а	9b

- Для ClearLLab B2 CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD38-PC5.5/CD45-PC7:
 - Создайте двухпараметрические гистограммы с использованием селектора соответствующих популяций, созданных на рисунке 1, для подсчета CD20+, CD10+, CD19+ и CD38+ (см. рисунки 10а–10g).
- Используйте отрицательно окрашенные популяции для установки положительных границ квадранта или региона (см. рисунки 10–11).

ПРИМЕЧАНИЕ. Если все клетки являются положительными к специфичному маркеру, установите границы исходя из отрицательно окрашенной популяции из другого маркера, связанного с одинаковым флуорохромом в рамках той же линии.



Рисунок 7-12: Типичные примеры двухпараметрических гистограмм для нормальной пробы периферической крови с использованием селектора лимфоцитов для реагентов ClearLab B1 Карра-FITC/Lambda-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 или ClearLab B2 CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD38-PC5.5/CD45-PC7.

ПРИМЕЧАНИЕ. Показаны не все гистограммы.

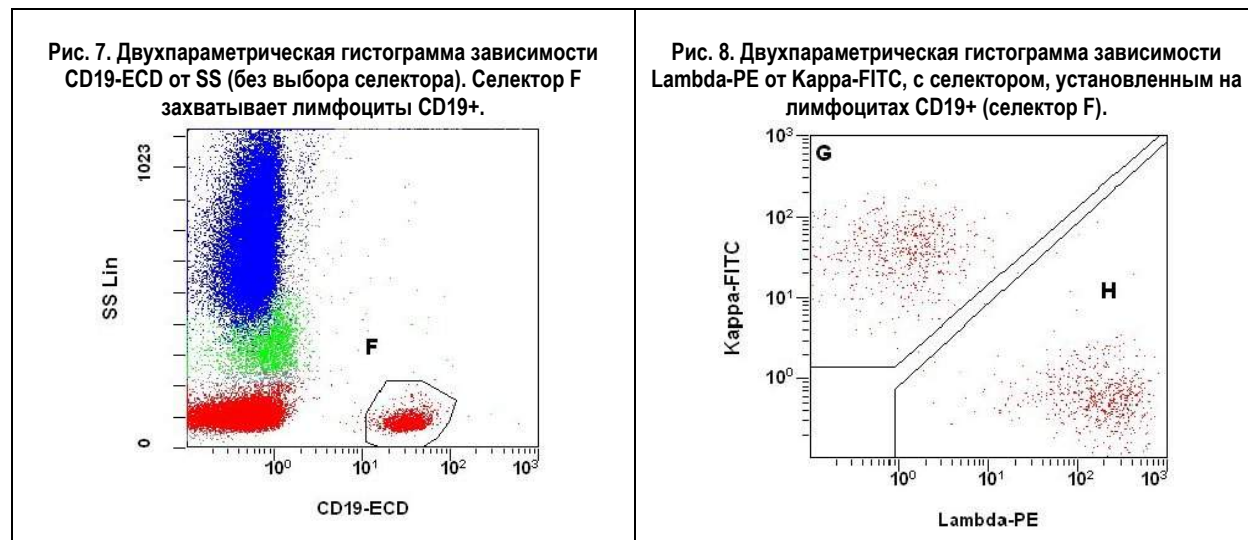
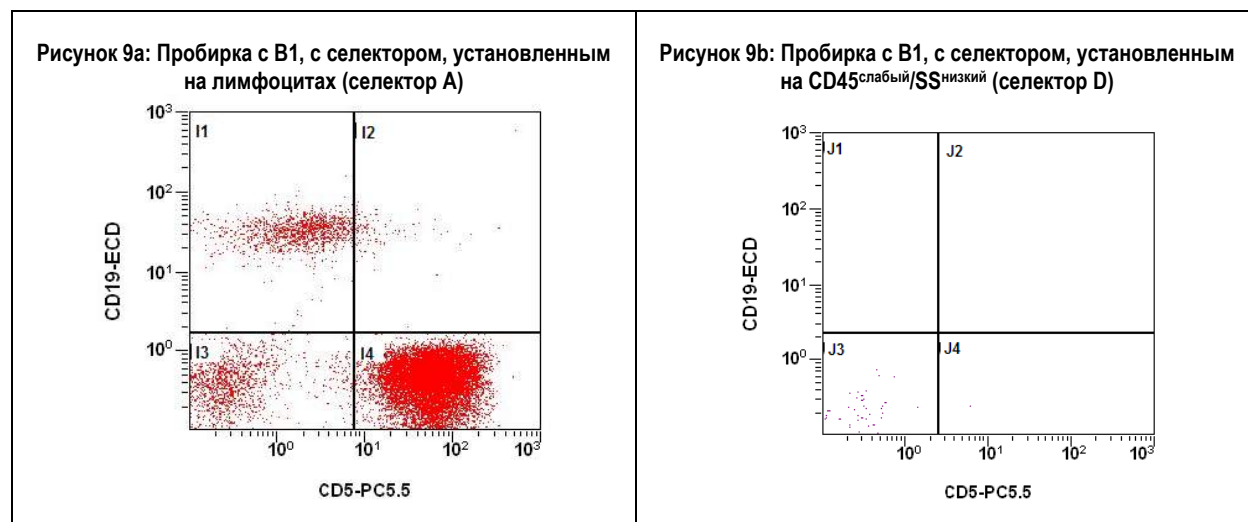


Рисунок 9а–9б: Двухпараметрические гистограммы зависимости CD5-PC5.5 от CD19-ECD для нормальной пробы периферической крови.



4. В таблице ниже приведены квадранты и гистограммы, используемые для подсчета каждой популяции.

Популяция	Квадранты	Рисунок гистограммы			
		Селектор LY	Селектор MO	Селектор GR	Селектор CD45слабый/SSнизкий
CD20+	2	10a			
CD19+CD10+	2	10b			10f
CD19+	2 + 4	10b			10f
CD19+CD38+	2	10c			
CD38+	2 + 4		10d		10g
CD10+	1 + 2			10e	



Рисунки 10а–10г: Двухпараметрические гистограммы зависимости CD19-ECD от CD20-FITC, CD19-ECD от CD10-PE, CD19-ECD от CD38-PC5.5 и CD38-PC5.5 от CD10-PE для нормальной пробы периферической крови.

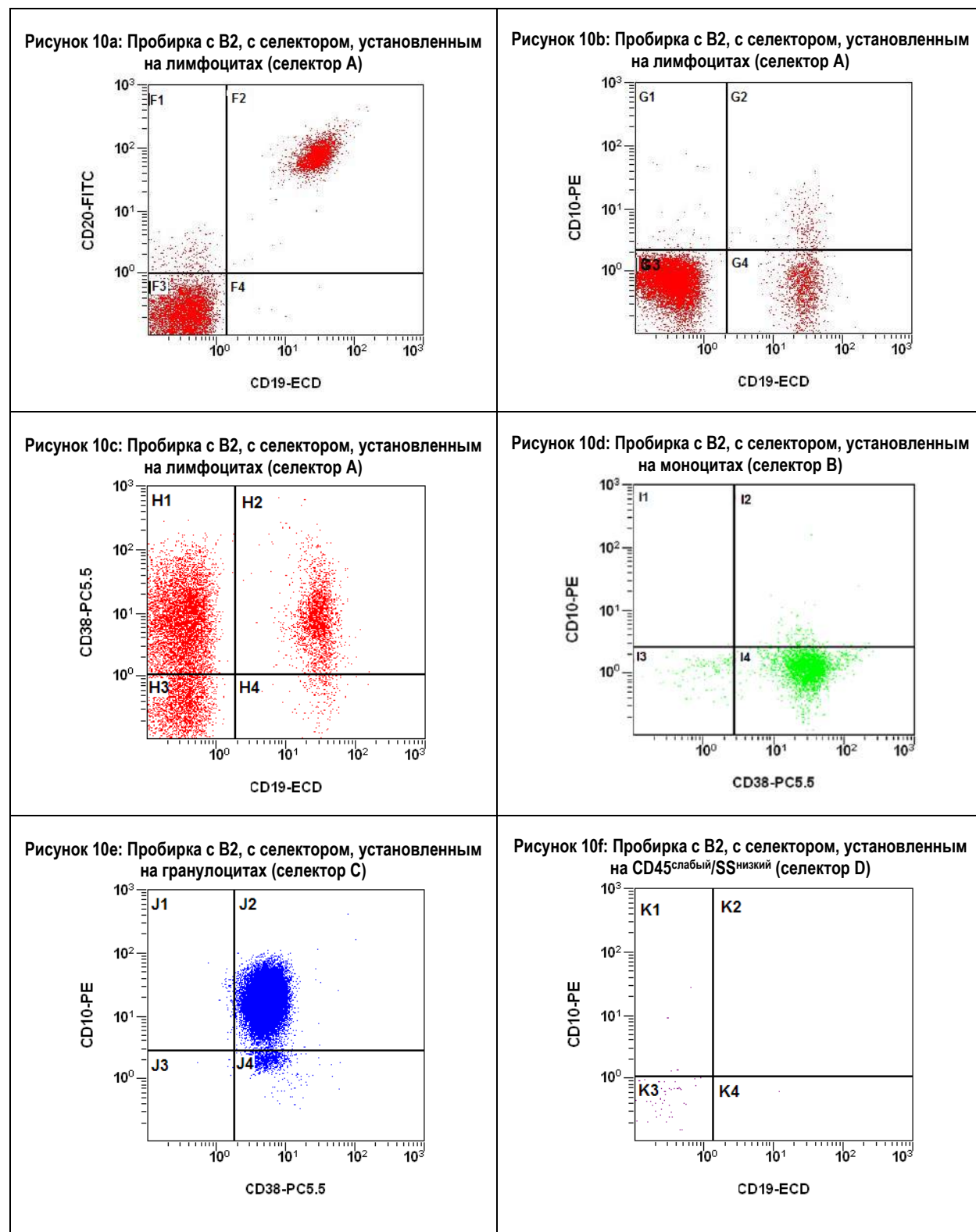


Рисунок 10g: Пробирка с B2, с селектором, установленным на CD45^{слабый}/SS^{низкий} (селектор D)

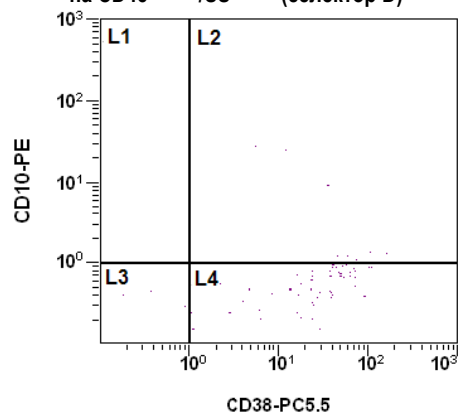
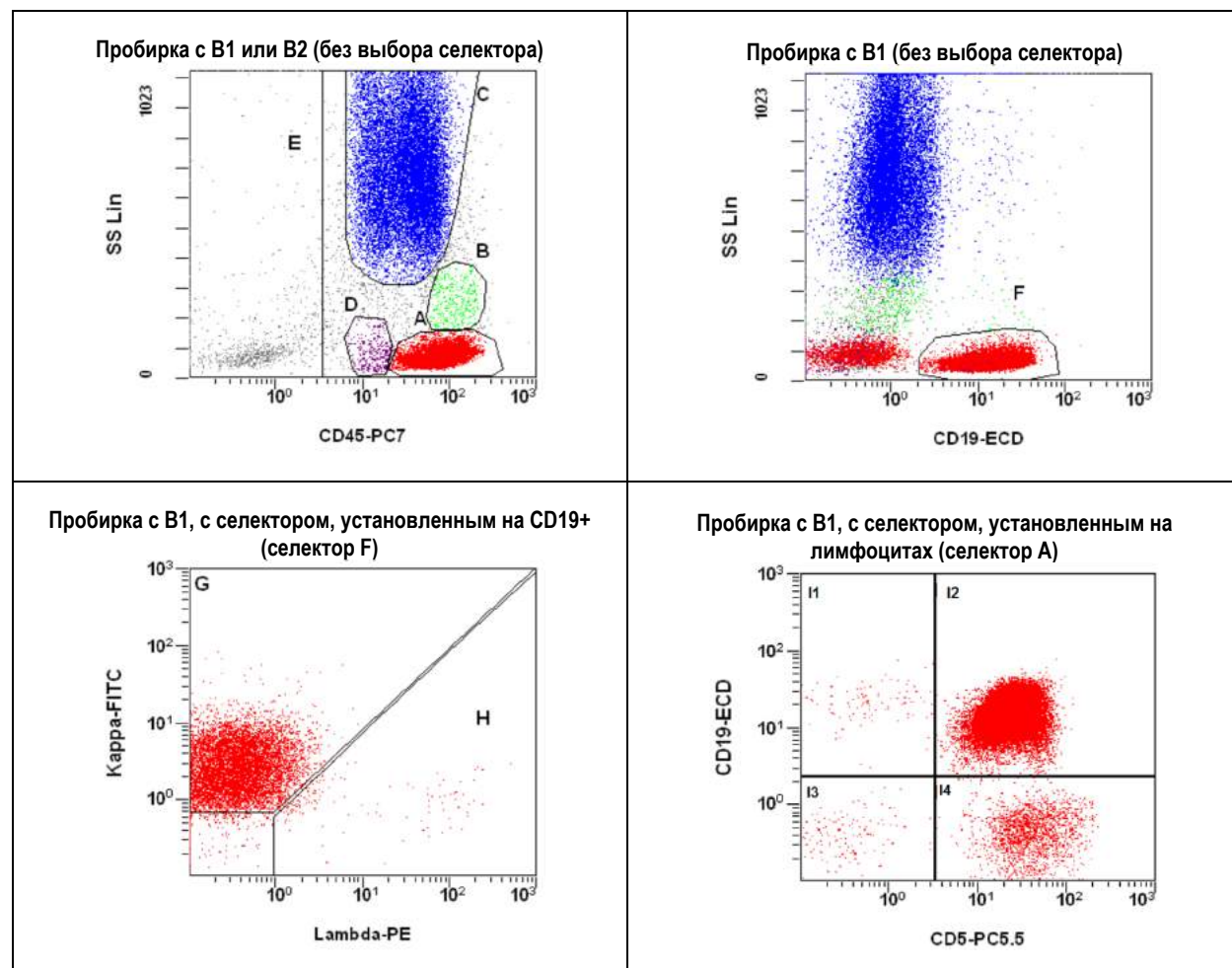


Рис. 11. Типичные примеры двухпараметрических гистограмм для реагентов ClearLab B1 и B2, полученных на аспиратованном образце зрелых В-клеток костного мозга при неоплазме.

ПРИМЕЧАНИЕ. Показаны не все гистограммы.



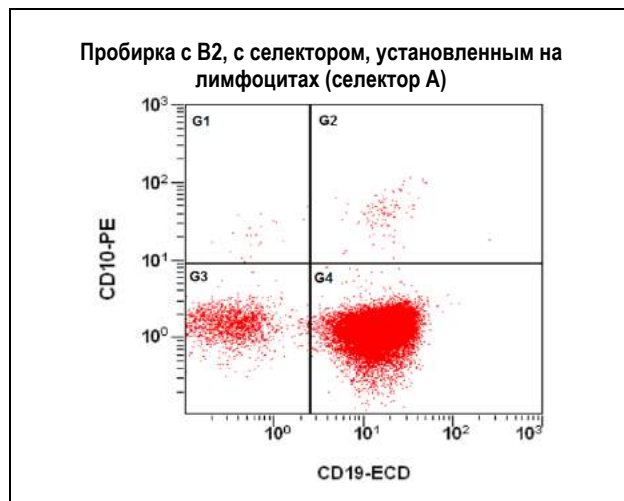
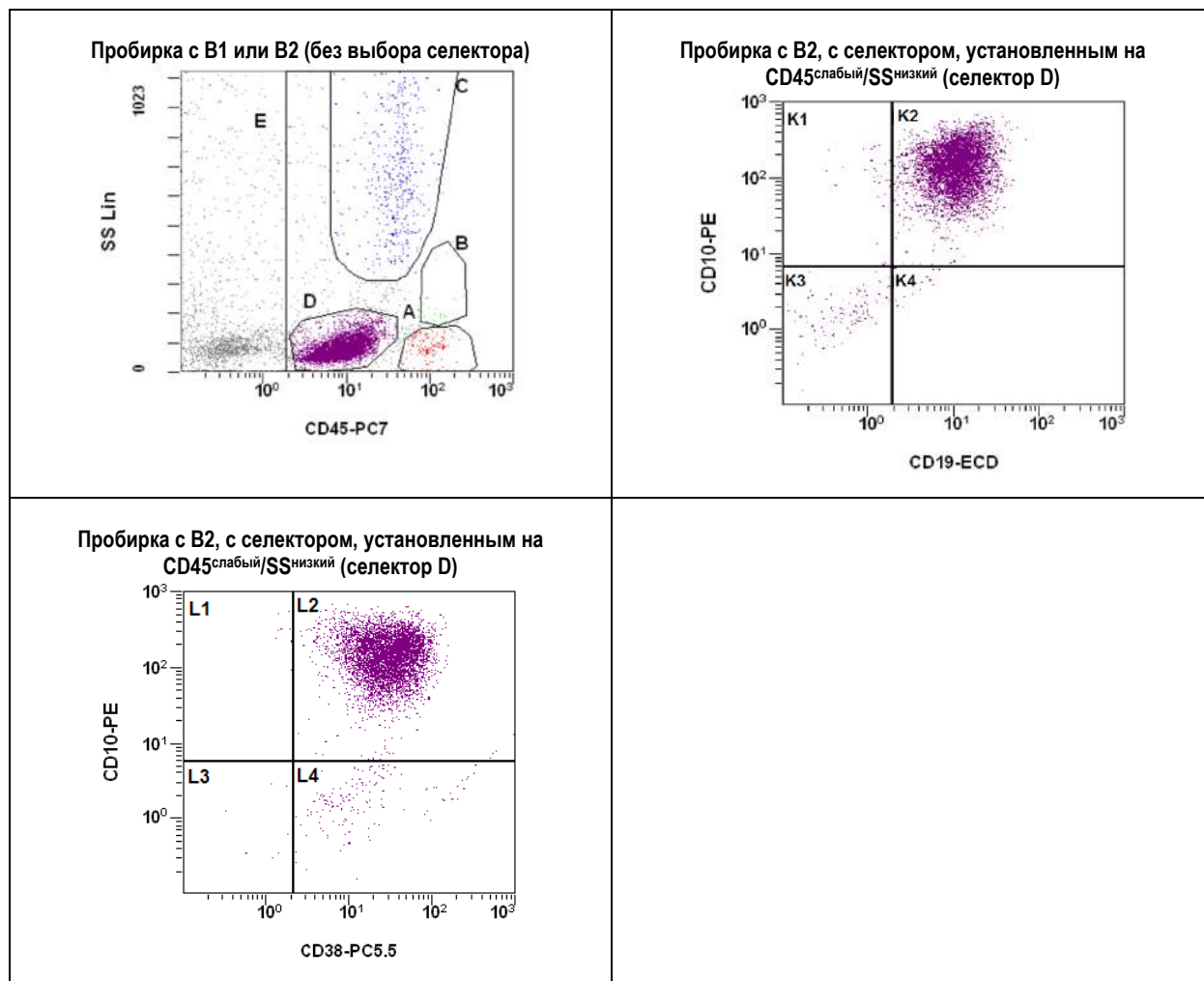


Рис. 12. Типичные примеры двухпараметрических гистограмм для реагентов ClearLLab B1 и B2, полученных на образце предшественников В-клеток костного мозга при лимфобластной лейкемии/лимфоме (LL/LBL).

ПРИМЕЧАНИЕ. Показаны не все двухпараметрические гистограммы.



ClearLLab M: CD7-FITC/CD13-PE/CD34-ECD/CD33-PC5.5/CD45-PC7:

1. Для ClearLLab M: CD7-FITC/CD13-PE/CD34-ECD/CD33-PC5.5/CD45-PC7:

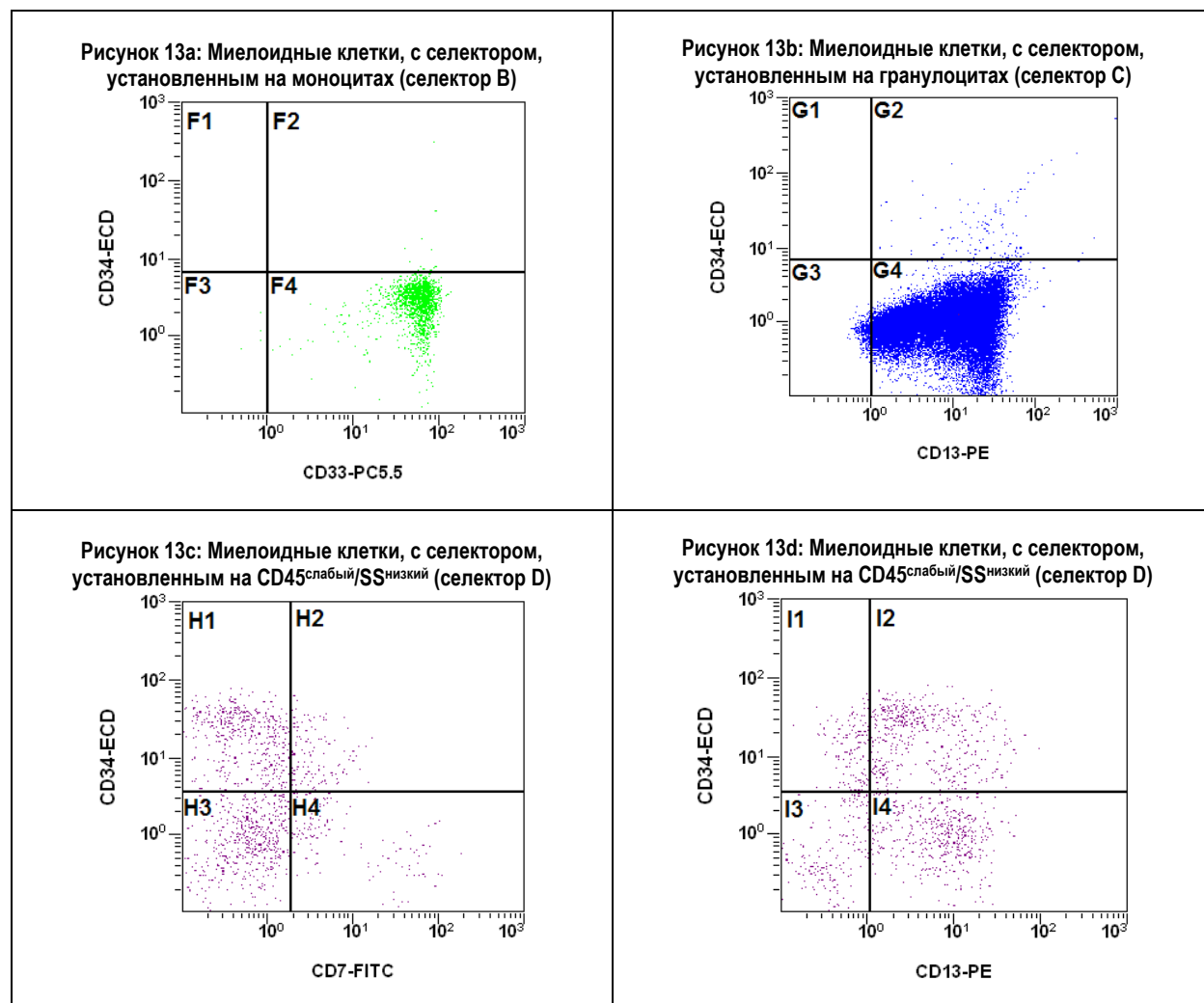
- Создайте двухпараметрические гистограммы с использованием селектора соответствующих популяций, созданных на рисунке 1, для подсчета CD7+, CD13+, CD34+ и CD33+ (см. рисунки 13a–13f).
- В таблице ниже приведены квадранты и гистограммы, используемые для подсчета каждой популяции.

Популяция	Квадранты	Рисунок гистограммы			
		Селектор LY	Селектор MO	Селектор GR	Селектор CD45слабый/SSнизкий
CD7+	2 + 4	13f			13c
CD13+	2 + 4			13b	13d
CD34+	1 + 2				13e
CD33+	2 + 4		13a		13e

2. Используйте отрицательно окрашенные популяции для установки положительных границ квадранта или региона.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если все клетки являются положительными к специфичному маркеру, установите границы исходя из отрицательно окрашенной популяции из другого маркера, связанного с одинаковым флуорохромом в рамках той же линии.

Рисунок 13a–13f: Двухпараметрические гистограммы зависимости CD33-PC5.5 от CD34-ECD, CD13-PE от CD34-ECD и CD7-FITC от CD34-ECD для нормального образца костного мозга.



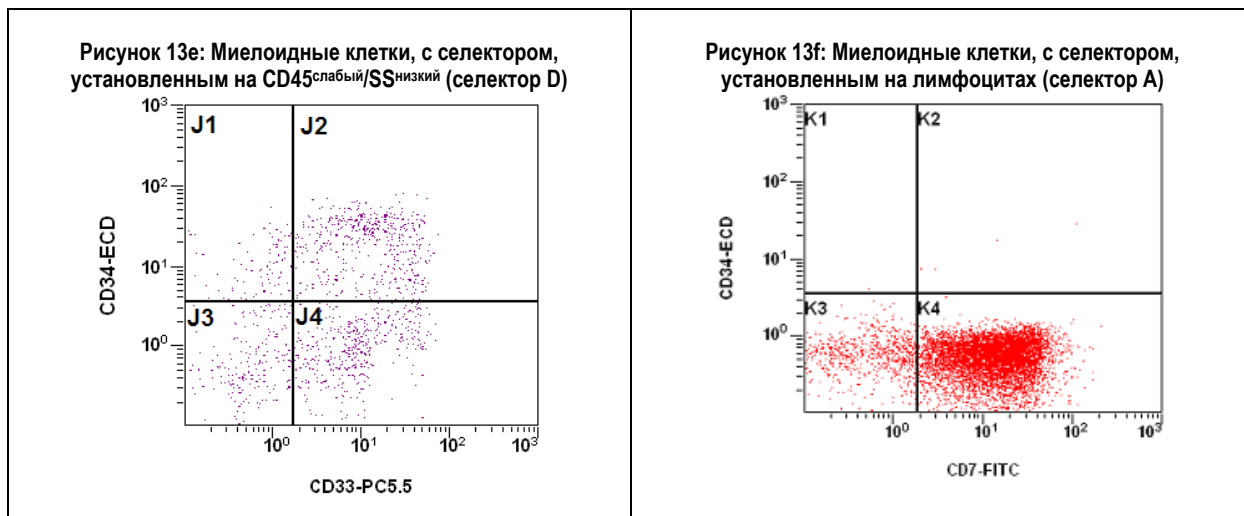
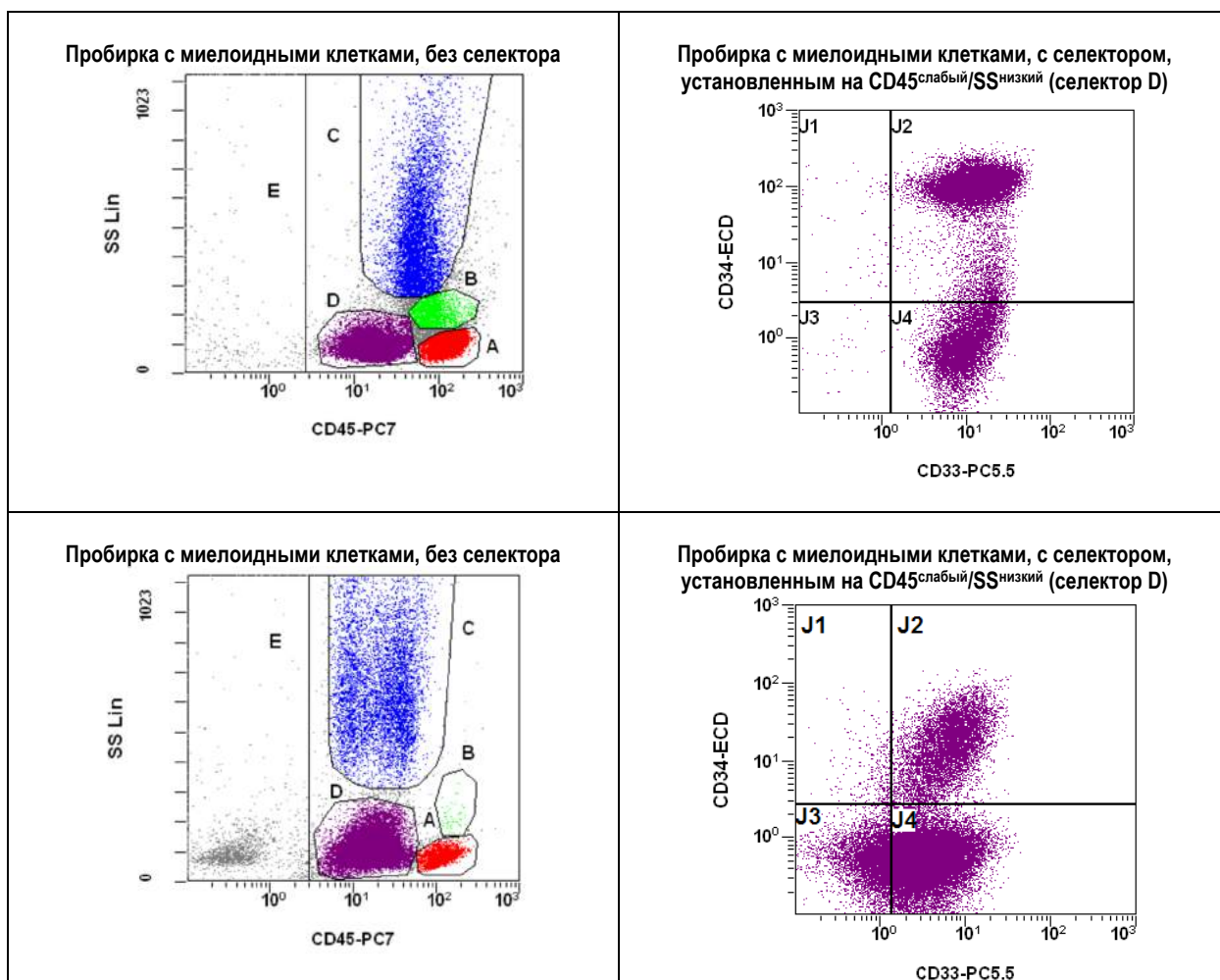


Рисунок 14. Типичные примеры двухпараметрических гистограмм для реагентов ClearLLab M, полученных на образце костного мозга при остром миелолейкозе (AML).

ПРИМЕЧАНИЕ. Показаны не все двухпараметрические гистограммы.



ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Образцы цельной крови и костного мозга, собранные с использованием K_2EDTA и окрашенные с помощью реагентов ClearLLab, могут быть приготовлены в течение 24 часов. Приготовленные пробы остаются в стабильном состоянии на протяжении еще 3 часов до анализа.
2. Образцы цельной крови и костного мозга, собранные с использованием гепарина, или образцы цельной крови, собранные с использованием ACD, могут быть приготовлены в течение 48 часов после сбора. Приготовленные пробы остаются в стабильном состоянии на протяжении еще 3 часов до анализа.
3. Готовьте пробы из образцов лимфатических узлов сразу при получении образцов. Приготовленные пробы следует проанализировать в течение 3 часов или хранить при температуре 2–8°C в течение 24 часов.
4. Для применения реагентов ClearLLab на проточном цитометре серии FC 500 необходимо использовать комплект фильтров для одномодового лазера (кат. № 179044) или узел модуля фильтров для одномодового лазера (кат. № 179045).
5. До окрашивания и анализа храните образцы при комнатной температуре.
6. Не помещайте образцы в холодильник. Охлажденные образцы могут дать ошибочные результаты.
7. Чтобы свести к минимуму возможность получения результатов ниже оптимальных, анализируйте окрашенные клетки без задержек.
8. Рекомендуемая жизнеспособность клеток для образцов венозной крови составляет >90%, однако это может быть трудно выполнимо для некоторых патологических образцов.
9. Реагенты ClearLLab предназначены для использования с цельной кровью, костным мозгом и моноклональными суспензиями лимфоидных популяций. Не допускайте разбавления, отбора аликвот или замораживания реагентов. Используйте реагенты только из исходной упаковки.
10. Эти реагенты предназначены исключительно для проточной цитометрии.
11. У пациентов, проходивших лечение антителами к человеческим моноклональным антителам, обнаружение специфических выявляемых антигенов может быть снижено или отсутствовать вследствие частичной или полной блокировки антителами, применявшимися для лечения.⁹⁻¹¹
12. Длительное взаимодействие клеток с лизирующими реагентами может привести к разрушению лейкоцитов и потере клеток интересующей популяции.
13. Не все эритроциты могут лизироваться, в частности: ядросодержащие эритроциты, патологическая концентрация белка, гемоглобинопатия. Это может стать причиной получения ошибочно заниженных результатов, поскольку не подвергшиеся лизису эритроциты будут подсчитаны как лейкоциты.
14. Патологические состояния не всегда сопровождаются патологическими изменениями процентного содержания популяций лейкоцитов. У больного человека процентное соотношение лейкоцитов может быть таким же, как и у здорового. Используйте результаты анализа с учетом клинических и других диагностических данных.
15. С некоторыми пациентами могут возникать особые проблемы ввиду измененного или очень низкого числа клеток некоторых клеточных популяций.
16. Результаты, полученные с помощью проточной цитометрии, могут быть ошибочными, если лазер неверно отъюстирован или неправильно установлены селекторы.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Данные технических характеристик были получены на системе проточной цитометрии Cytomics FC500 с программным обеспечением СХР.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Антигенная специфичность всех моноклональных антител была предварительно установлена на Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops (Международных рабочих совещаниях по дифференцировочным антигенам лейкоцитов).¹²⁻¹⁷



Т-клетки:

	CD2-FITC	CD56-PE	CD7-ECD	CD5-PC5.5	CD45-PC7	CD8-FITC	CD4-PE	CD3-PC5.5
Специфичность	CD2	CD56	CD7	CD5	CD45	CD8	CD4	CD3
Клон	39C1.5	N901/NKH-1	8H8.1	BL1a	J.33	SFC121THY2D3	SFC12T4D11	UCHT1
Гибридома	P3-X63-Ag.8.653 x клетки крысиной селезенки	NS1 x BALB/c	P3 x 63.Ag8 x BALB/c	SP2/0-Ag14 x BALB/c	NS1 x BALB/c	NS1 x BALB/c	NS1 x BALB/c	NS1 x BALB/c
Иммуноген	РНА-стимулированные человеческие лимфобласты	Человеческие клетки хронической миелоидной лейкемии	Человеческие тимоциты	Человеческие лимфоциты из грудного лимфатического протока	Клеточная линия Laz 221	Человеческие тимоциты	Человеческие периферийные Т-лимфоциты	Человеческие тимоциты и лимфоциты периферической крови от пациента с лейкемией Сезари
Цепь Ig	IgG2a	IgG1	IgG2a	IgG2a	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
Источник	Крыса	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография
Флуоресценция	Возбуждение при 468–509 nm Излучение при 504–541 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 568–590 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 610–635 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 680–710 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 750–790 nm	Возбуждение при 468–509 nm Излучение при 504–541 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 568–590 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 680–710 nm
Конъюгация	FITC (флуоресцин изотиоцианат)	PE (фикоэритрин)	ECD (фикоэритрин - Texas Red®-X)	PC5.5 (фикоэритрин-Су5.5)	PC7 (фикоэритрин-Су7)	FITC (флуоресцин изотиоцианат)	PE (фикоэритрин)	PC5.5 (фикоэритрин-Су5.5)
Молярное отношение	FITC/белок: 3–10	PE/Белок: 0,5–1,5	ECD/Белок: 0,5–1,5	PC5.5/Белок: 0,5–1,5	PC7/Белок: 0,5–1,5	FITC/белок: 5–10	PE/Белок: 0,5–1,5	PC5.5/Белок: 0,5–1,5

В-клетки:

	Каппа-FITC	Lambda-PE	CD19-ECD	CD5-PC5.5	CD45-PC7	CD20-FITC	CD10-PE	CD38-PC5.5
Специфичность	Каппа цепь	Лямбда цепь	CD19	CD5	CD45	CD20	CD10	CD38
Клон	Поликлональный	Поликлональный	J3-119	BL1a	J.33	B9E9 (HRC20)	ALB1	LS198-4-3
Гибридома	Н/П	Н/П	NS-1 x BALB/c	SP2/0-Ag14 x BALB/c	NS1 x BALB/c	P3-X63-Ag.8.653 x BALB/c	NS1 x BALB/c	SP2/0 x BALB/c
Иммуноген	Легкие поликлональные Каппа цепи	Легкие поликлональные Lambda цепи	Клетки лимфомы SKLY18	Человеческие лимфоциты из грудного лимфатического протока	Клеточная линия Laz 221	В-клетки	Человеческие лейкоимические клетки	Линия человеческих Т-клеток (Hut 78)
Цепь Ig	F(ab') ₂	F(ab') ₂	IgG1	IgG2a	IgG1	IgG2a	IgG1	IgG1
Источник	Кролик	Кролик	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь
Очистка	Хроматография	Хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография
Флуоресценция	Возбуждение при 468–509 nm Излучение при 504–541 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 568–590 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 610–635 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 680–710 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 750–790 nm	Возбуждение при 468–509 nm Излучение при 504–541 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 568–590 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 680–710 nm
Конъюгация	FITC (флуоресцин изотиоцианат)	PE (фикоэритрин)	ECD (фикоэритрин - Texas Red-X)	PC5.5 (фикоэритрин-Су5.5)	PC7 (фикоэритрин-Су7)	FITC (флуоресцин изотиоцианат)	PE (фикоэритрин)	PC5.5 (фикоэритрин-Су5.5)
Молярное отношение	FITC/белок: 3–10	PE/Белок: 0,5–1,5	ECD/Белок: 0,5–1,5	PC5.5/Белок: 0,5–1,5	PC7/Белок: 0,5–1,5	FITC/белок: 3–10	PE/Белок: 0,5–1,5	PC5.5/Белок: 0,5–1,5



Миелоидные клетки:

	CD7-FITC	CD13-PE	CD34-ECD	CD33-PC5.5	CD45-PC7
Специфичность	CD7	CD13	CD34	CD33	CD45
Клон	8H8.1	366	толщина 581	D3HL60.251	J.33
Гибридома	P3 x 63.Ag8 x BALB/c	NS1 x BALB/c	NSO x BALB/c	NS1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c
Иммуноген	Человеческие тимоциты	Человеческие клетки острой миеломоноцитарной лейкемии	Клеточная линия KG-1a + человеческий CD34+ лейкемия	Клеточная линия HL60	Клеточная линия Laz 221
Цепь Ig	IgG2a	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
Источник	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь	Мышь
Очистка	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография
Флуоресценция	Возбуждение при 468–509 nm Излучение при 504–541 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 568–590 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 610–635 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 680–710 nm	Возбуждение при 486–580 nm Излучение при 750–790 nm
Конъюгация	FITC (флуоресцин изотиоцианат)	PE (фикоэритрин)	ECD (фикоэритрин — Texas Red-X)	PC5.5 (фикоэритрин-Су5.5)	PC7 (фикоэритрин-Су7)
Молярное отношение	FITC/Белок: 3–10	PE/Белок: 0,5–1,5	ECD/Белок: 0,5–1,5	PC5.5/Белок: 0,5–1,5	PC7/Белок: 0,5–1,5

Специфичность для реагентов ClearLab T1 и T2

Антигенная специфичность моноклональных антител CD45, CD2, CD56, CD7 и CD5, входящих в состав реагента ClearLab T1 CD2-FITC/CD56-PE/CD7-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7, была предварительно установлена на Втором (CD2 и CD7), Третьем (CD5 и CD45) и Четвертом (CD56) International Workshop for Leukocyte Typing (Международном семинаре по типизации лейкоцитов).

Антигенная специфичность моноклональных антител CD45, CD3, CD4 и CD8, входящих в состав реагента ClearLab T2 CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7, была предварительно установлена на Первом (CD4, CD8 и CD3) и Третьем (CD45) International Workshop for Leukocyte Typing (Международном семинаре по типизации лейкоцитов).

Для оценки клеточной перекрестной реактивности моноклональных антител CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8 и CD56, входящих в состав реагентов ClearLab T1 CD2-FITC/CD56-PE/CD7-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 или реагентов ClearLab T2 CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7, были проанализированы пробы человеческой крови, взятые у здоровых взрослых доноров. Результаты последовательно демонстрировали, что моноклональные антитела к CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8 и CD56 специфично реагировали с соответствующими популяциями лимфоцитов. Моноциты слабо окрашивались моноклональными антителами к CD4.

Специфичность для реагентов ClearLab B1 и B2

Применение анализа легких каппа и лямбда цепей для иммунофенотипирования злокачественности В лимфоцитообразования с использованием реагента ClearLab B1 Каппа-FITC/Lambda-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 было предварительно описано в иммунофенотипировании с помощью проточной цитометрии для гематологических неоплазм.¹⁸

Антигенная специфичность моноклональных антител CD45, CD20, CD19, CD10 и CD38, входящих в состав реагента ClearLab B2 CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD38-PC5.5/CD45-PC7, была предварительно установлена на Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops (Международных рабочих совещаниях по дифференцировочным антигенам лейкоцитов).

Для оценки клеточной перекрестной реактивности моноклональных антител CD5, CD19, CD20, CD38 и CD10, входящих в состав реагентов ClearLab B1 Каппа-FITC/Lambda-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 и ClearLab B2 CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD38-PC5.5/CD45-PC7, были проанализированы пробы человеческой крови, взятые у здоровых взрослых доноров. Результаты последовательно демонстрировали, что моноклональные антитела к CD5, CD19, CD20, CD38 и CD10 специфично реагировали с соответствующими клеточными популяциями.

Специфичность для реагентов ClearLab M

Антигенная специфичность моноклональных антител CD7, CD13, CD33, CD34 и CD45, входящих в состав реагента ClearLab M CD7-FITC/CD13-PE/CD34-ECD/CD33-PC5.5/CD45-PC7, была предварительно установлена на Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops (Международных рабочих совещаниях по дифференцировочным антигенам лейкоцитов).

Для оценки клеточной перекрестной реактивности моноклональных антител CD7, CD13, CD33, CD34 и CD45, входящих в состав реагентов ClearLab M CD7-FITC/CD13-PE/CD34-ECD/CD33-PC5.5/CD45-PC7, были проанализированы пробы человеческой крови, взятые у здоровых взрослых доноров. Результаты последовательно демонстрировали, что моноклональные антитела к CD7, CD13, CD33, CD34 и CD45 специфично реагировали с соответствующими популяциями лейкоцитов.



ЭКСПЛУАТАЦИЯ

СРАВНЕНИЕ МНОГОЦВЕТНЫХ И ОДНОЦВЕТНЫХ РЕАГЕНТОВ

Рабочие характеристики реагентов ClearLLab сравнивали с характеристиками одноцветных конъюгатов. В исследовании использовались пробы нормальной крови взрослых доноров. Для оценки популяции клеток CD34+ добавляли контрольные клетки Stem-Trol. Протоколы анализа были определены на одноцветных пробирках как справочных и применены к комплектам ClearLLab. Селекция с исключением лейкоцитов была выполнена на гистограмме зависимости FS от SS. Затем был проанализирован каждый маркер на гистограмме зависимости SS от FL с селектором на исключение лейкоцитов.

Эти данные демонстрируют эквивалентность рабочих характеристик реагентов ClearLLab и одноцветных конъюгатов.

Линия клеток	Искомое вещество	N	Средний % положительного значения					
			Несколько цветов	Один цвет	Средняя разница	Нижний доверительный предел	Верхний доверительный предел	Выводы
ClearLLab T1	CD2+	20	22,9	24,0	-1,1	-2,0	-0,2	Pass (Допуск)
ClearLLab T1	CD56+	20	4,3	4,5	-0,2	-0,4	0,1	Pass (Допуск)
ClearLLab T1	CD7+	30	23,9	24,0	-0,1	-0,6	0,5	Pass (Допуск)
ClearLLab T1	CD5+	20	21,1	20,5	0,6	-0,5	1,7	Pass (Допуск)
ClearLLab T1	CD45+	20	5,6	5,4	0,2	0,0	0,4	Pass (Допуск)
ClearLLab T2	CD8+	20	7,0	6,7	0,3	0,1	0,6	Pass (Допуск)
ClearLLab T2	CD4+	20	9,3	9,1	0,2	-0,3	0,8	Pass (Допуск)
ClearLLab T2	CD3+	20	16,2	16,4	-0,2	-1,4	1,0	Pass (Допуск)
ClearLLab B1	Kappa+	30	2,7	2,8	-0,1	-0,2	-0,0	Pass (Допуск)
ClearLLab B1	Lambda+	30	1,4	1,4	0,0	-0,0	0,1	Pass (Допуск)
ClearLLab B1	CD19+	20	2,5	2,4	0,1	-0,0	0,3	Pass (Допуск)
ClearLLab B2	CD20+	20	1,7	1,8	-0,1	-0,3	0,2	Pass (Допуск)
ClearLLab B2	CD10+	30	57,0	57,1	-0,1	-0,8	0,6	Pass (Допуск)
ClearLLab B2	CD38+	30	5,8	5,8	0,0	-0,1	0,2	Pass (Допуск)
ClearLLab M	CD7+	30	25,0	24,5	0,6	-0,0	1,1	Pass (Допуск)
ClearLLab M	CD13+	30	60,2	61,0	-0,7	-1,6	0,2	Pass (Допуск)
ClearLLab M	CD34+	20	6,3	5,9	0,4	-0,1	1,0	Pass (Допуск)
ClearLLab M	CD33+	30	5,9	5,9	0,0	-0,2	0,2	Pass (Допуск)



НИЖНИЙ ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ

Исследование проводилось в соответствии с CLSI EP17-A, Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline (Протоколы для определения пределов обнаружения и пределов количественной оценки; Утвержденные нормативы). Результаты подтверждают нижний предел чувствительности (LoD) при регистрации 50 000 событий (см. таблицу ниже).

Маркер	Предел обнаружения (LoD), % положительных
CD2	0,136
CD7	0,141
CD5	0,137
CD8	0,097
CD4	0,129
CD3	0,174
CD20	0,117
CD10	0,116
CD38	0,115
Kappa	0,127
Lambda	0,131
CD19	0,139
CD56	0,117
CD13	0,107
CD34	0,105
CD33	0,105

СХОДИМОСТЬ

Изменчивость результатов в одном прогоне

Процентные значения положительной популяции были определены с использованием IMMUNO-TROL, каждый анализ обрабатывался в двух экземплярах, два раза в день в течение 20 дней, в 4 различных географических регионах, используя реагенты ClearLab T1 и T2.

Измерение	Воспроизводимость (CV %)	Среднее значение
% Лимфоциты		
CD2+	0,79%	81,75
CD5+	0,87%	72,71
CD7+	0,87%	74,59
CD56+	3,32%	13,76
CD3+	0,76%	71,14
CD3+CD4+	1,22%	45,47
CD3+CD8+	1,89%	22,67



Процентные значения положительной популяции были определены с использованием IMMUNO-TROL, каждый анализ обрабатывался в двух экземплярах, два раза в день в течение 20 дней, в 4 различных географических регионах, используя реагенты ClearLab B1 и B2.

Измерение	Воспроизводимость (CV %)	Среднее значение
% Лимфоциты		
CD19+ (B1)	2,63%	14,23
CD19+ (B2)	2,58%	14,36
CD20+	2,92%	14,82
CD5+	0,85%	71,83
% CD19 В-Лимфоциты		
CD19+Каппа+	2,78%	57,38
CD19+Лямбда+	3,71%	40,29
% CD38 Моноциты		
CD38+	0,70%	94,57
% CD10+ Гранулоциты		
CD10+	0,02%	99,96

Процентные значения положительной популяции были определены с использованием IMMUNO-TROL и IMMUNO-TROL с контрольными клетками Stem-Trol, каждый анализ обрабатывался в двух экземплярах, два раза в день в течение 20 дней, в 4 различных географических регионах, с использованием реагентов ClearLab M.

Измерение	Воспроизводимость (CV %)	Среднее значение
% Лимфоциты		
CD7+	0,95%	73,91
% Гранулоциты		
CD13+	0,40%	99,92
% Моноциты		
CD33+	0,93%	95,53
% Популяция Stem-Trol		
CD34+	6.65%	11,77

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации. Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.
2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо третьих лиц, либо непреодолимой силы.
3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ:

ООО «Бекмен Культер» 109004, г. Москва, ул. Станиславского, д.21, стр.3

Тел./факс, e-mail: (495) 9846730/(495) 228-67-00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

ССЫЛКИ

1. 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia by Flow Cytometry, Cytometry 2007 72B:S14-22.
2. WHO 2008 Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 4th Edition, 2008, IARC Press.
3. Braylan RC, Orfao A, Borowitz MJ and Davis BH. 2001. Optimal number of reagents required to evaluate hematolymphoid neoplasias: Results of an international consensus meeting. Cytometry, 46:23-27.
4. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: recommendations for training and education to perform clinical flow cytometry. Greig B, Oldaker T, Warzynski M, Wood B. Cytometry B Clin Cytom. 2007;72 Suppl 1:S23-33.
5. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. Wood BL, Arroz M, Barnett D, DiGiuseppe J, Greig B, Kussick SJ, Oldaker T, Shenkin M, Stone E, Wallace P. Cytometry B Clin Cytom. 2007;72 Suppl 1:S14-22.
6. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the flow cytometric immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia: medical indications. Davis BH, Holden JT, Bene MC, Borowitz MJ, Braylan RC, Cornfield D, Gorczyca W, Lee R, Maiese R, Orfao A, Wells D, Wood BL, Stetler-Stevenson M. Cytometry B Clin Cytom. 2007;72 Suppl 1:S5-13.



7. 2006 Bethesda International Consensus Conference on Flow Cytometric Immunophenotyping of Hematolymphoid Neoplasia. Stetler-Stevenson M, Davis B, Wood B, Braylan R. Cytometry B Clin Cytom. 2007;72 Suppl 1:S3.
8. Stetler-Stevenson, et al, "Clinical Flow Cytometric Analysis of Neoplastic Hematolymphoid Cells; Approved Guideline – Second Edition", April 2007, H43-A2, Vol. 27, No. 11.
9. Cosimi AB, Colvin RB, Burton RC, Rubin RH, Goldstein G, Kung PC, Hansen WP, Delmonico FL and Russell PS. 1981. Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts. N. Engl. J. Med., 305:308-314.
10. Kaufman A, Herold KC. Anti-CD3 mAbs for treatment of type 1 diabetes. Diabetes Metab Res Rev. 2009 May; 25(4):302-6.
11. Frankel AE, Zuckero SL, Mankin AA, Grable M, Mitchell K, Lee YJ, Neville DM, Woo JH. Anti-CD3 recombinant diphtheria immunotoxin therapy of cutaneous T cell lymphoma. Curr Drug Targets. 2009 Feb; 10(2):104-9.
12. Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C and Schlossman SF, eds. 1984. Leukocyte Typing. New York: Springer-Verlag. p. 26, 28, 41-2, 196, 01, 215-216.
13. McMichael AJ, ed. Leukocyte Typing III. Oxford: Oxford University Press, 1987, pp. 38, 40, 42, 43, 116, 167, 170-172, 176, 199, 202, 206, 302-308, 315, 475, 796-801.
14. Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer R, Tedder TF and Todd RF, eds. Leukocyte Typing V. Oxford, UK: Oxford University Press, 1995, Vol. 1. pp. 262, 263, 268, 270, 507-511; Vol. 2. pp. 1398-1400.
15. Barclay AN, Birkeland ML, Brown MH, Beyers AD, Davis SJ, Samoja C, Williams AF eds. The Leucocyte Antigen Facts Book. London: Academic Press, 1993, pp. 106-109.
16. Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, and Bernstein ID. Leukocyte Typing II. New York: Springer-Verlag, 1986, Vol 2: pp 8, 15-25, 37.
17. Zola H, Swart B, Nicholson I and Voss E. Leukocyte and Stromal Cell Molecules: The CD Markers. Wiley-Liss, 2007.
18. Craig FE and Foon KA. Flow cytometric Immunophenotyping for Hematologic Neoplasms. 2008, Blood, 111:8, 3941-3967.

ПРЕДЛАГАЕМАЯ ПРОДУКЦИЯ

ClearLab T1: CD2-FITC/CD56-PE/CD7-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66807

ClearLab T2: CD8-FITC/CD4-PE/CD3-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66808

ClearLab B1: Kappa-FITC/Lambda-PE/CD19-ECD/CD5-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66809

ClearLab B2: CD20-FITC/CD10-PE/CD19-ECD/CD38-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66810

ClearLab M: CD7-FITC/CD13-PE/CD34-ECD/CD33-PC5.5/CD45-PC7 — 25 тестов (0,5 mL)

 B66812

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь с вашим местным представителем компании Beckman Coulter.

Глоссарий символов доступен на сайте beckman.com/techdocs (PN C05838).

 Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ireland
www.beckman.com

По вопросам качества продукции обращаться к представителю производителя на территории РФ:
ООО «Бекмен Культер»,
109004 Москва, Россия, ул. Станиславского, д. 21, стр. 3.
Тел.: +7 (495) 228 67 00, e-mail: beckman.ru@beckman.com

© 2019 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.

История редакций

Редакция АГ, 10/2018

Изменения были внесены в:

- Добавить новые языки

Редакция АГ, 05/2019

Изменения были внесены в:

- Добавить новые языки

Редакция АН, 10/2019

Изменения были внесены в:

- Добавить новые языки



Компенсационные частицы ClearLab Compensation Beads

REF B99883 — 100 тестов

Кат. № C00201-AD



IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

ClearLab Compensation Beads можно использовать в сочетании с компенсационным набором ClearLab для настройки цветовой компенсации на проточных цитометрах Navios и Navios EX перед началом многоцветного анализа с панелями ClearLab 10C.

КОНЕЧНЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Этот продукт предназначен для профессионального использования в лаборатории.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Для многоцветных приложений компенсация должна быть оптимизирована для получения последовательных и надежных результатов. Компенсационные частицы предназначены для захвата конъюгированных с красителем антител для предоставления сигнала флуоресценции, который может быть обнаружен проточными цитометрами Navios и Navios EX для генерации компенсационной матрицы.

Компенсационные частицы ClearLab Compensation Beads содержат два флакона частиц 3,0–3,4 мкм в суспензии в концентрации приблизительно 1×10^7 частиц/мл. Отрицательные по захвату антител частицы действуют как отрицательный контроль и не связываются с флуорохром-конъюгированными антителами. Положительные по захвату антител частицы содержат частицы, покрытые IgG-связывающим агентом, которые будут связывать все мышиные изотипы.

REAGENTS (РЕАГЕНТЫ)

Содержимое ClearLab Compensation Beads

Отрицательные частицы захвата антител — 1 флакон x 5 мл

Положительные частицы захвата антител — 1 флакон x 5 мл

Частицы суспендированы в буфере хранения, содержащем 0,016 M PBS, 0,2% BSA и 0,02% натрия азида.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ



Паспорт безопасности доступен на веб-сайте beckman.com/techdocs.

1. Эти реагенты содержат 0,02% азида натрия. В кислой среде из азида натрия образуется азотистоводородная кислота, крайне токсичное соединение. Азидовые компоненты должны быть смыты проточной водой при их выбрасывании. Эти меры предосторожности рекомендованы для того, чтобы избежать наложений в металлической трубке, в которой могут образоваться взрывчатые

реагенты. При попадании в глаза или на кожу тщательно промойте водой.

2. Перед использованием убедитесь, что частицы полностью возвращены в состояние суспензии. Они могут осесть за время длительного периода хранения.
3. При хранении или использовании сводите к минимуму воздействие света на реагенты.
4. Не используйте компенсационные частицы после истечения срока хранения, указанного на этикетке флакона.
5. Руководствуйтесь надлежащей лабораторной практикой (НЛП) при манипуляциях с этим реагентом.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Эти реагенты стабильны до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении при температуре 2–8°C. Не замораживайте. Минимизируйте воздействие света. Вскрытый флакон стабилен в течение 365 дней. Вскрытые флаконы после использования следует хранить в холодильнике.

ПРИЗНАКИ РАЗРУШЕНИЯ

Невозможность получения ожидаемых результатов может свидетельствовать о нестабильности или разрушении. На порчу продукта может указывать отсутствие флуоресцентного сигнала от окрашенных захватывающих частиц, или когда положительный сигнал нельзя отличить от отрицательного сигнала.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Перед использованием требуется соответствующее ресуспендирование отдельных компонентов набора.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

ClearLab Compensation Beads

REF B99883 — 100 тестов

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Пробирки необходимого размера

Проточный цитометр

Вихревой смеситель

Центрифуга

Окрашивающий буфер — 1 x PBS при pH 7,4 (дополнительно поставляемые реагенты для буфера: 0,2% BSA и 0,02% азида натрия)

ПРОЦЕДУРА ОКРАШИВАНИЯ ЧАСТИЦ

1. Энергично перемешайте флаконы отрицательных и положительных частиц для захвата антител.
2. Добавьте по одной капле отрицательных частиц и по одной капле положительных частиц в каждую одноцветную пробирку реагентов компенсационного набора и немедленно перемешайте.
3. Инкубируйте при комнатной температуре в темноте в течение 20 минут.
4. Добавьте 1 мл окрашивающего буфера в каждую тестовую пробирку, перемешайте и центрифугируйте при 300 g в течение 6 минут.
5. Сцедите супернатант и ресуспендируйте частицы в 600 мкл окрашивающего буфера.

ПРИМЕЧАНИЕ. Подготовленную пробу частиц можно хранить до сбора данных в темном месте 6 часов при температуре при температуре 2–8°C.

ПРОЦЕДУРА

1. Чтобы получить подробные инструкции о том, как анализировать приготовленные частицы и как создавать компенсационную матрицу для приложения ClearLab 10C, см. ClearLab 10C

System Guide (Руководство по системе ClearLab 10C).

ПРИМЕЧАНИЕ. Убедитесь, что дискриминатор достаточно низкий, чтобы обнаруживать популяцию частиц-синглетов.

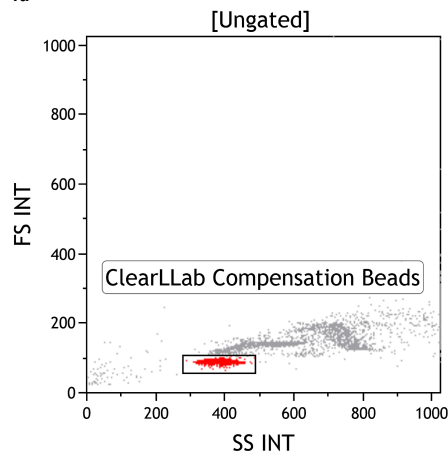
2. Используя цитонастройки, оптимизированные для вашего приложения, проанализируйте каждую из проб окрашенных частиц и убедитесь, что положительные сигналы находятся в пределах шкалы для генерации компенсационной матрицы.

ПРИМЕЧАНИЕ. Если большое количество дублетов и триплетов наблюдается на гистограмме FS относительно SS, обработайте ультразвуком окрашенную пробу в течение 15–20 секунд и проанализируйте повторно.

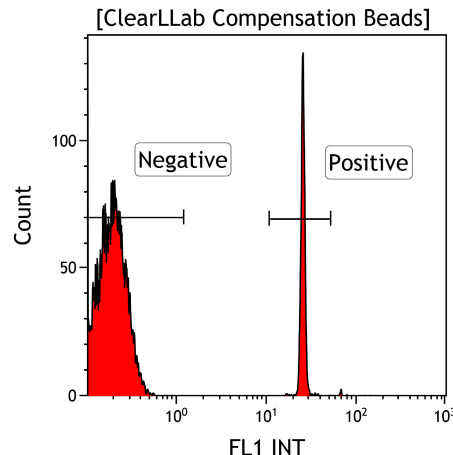
Рисунки 1a и 1b:

Рисунки 1a и 1b являются примерами рассеяния селекции и профиля флуоресценции.

1a



1b



ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

Компенсационные частицы ClearLab Compensation Beads

REF B99883 — 2 x 5 мл

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-742-2345 (в США или Канаде) или свяжитесь со своим местным представителем компании Beckman Coulter.

Для пациента / пользователя / третьей стороны в Европейском Союзе и в странах с идентичной



системой нормативного регулирования (Регламент 2017/746/EU о медицинских изделиях для диагностики in vitro); если во время использования этого изделия или в результате его использования произошел серьезный инцидент, сообщите о нем производителю и/или его уполномоченному представителю, а также своему национальному компетентному органу.

Сводные данные по безопасности и функциональным характеристикам содержатся на beckman.com/techdocs.

Glossary of Symbols (Глоссарий символов) доступен на сайте beckman.com/techdocs (Кат. № C05838).

Произведено для Beckman Coulter Ireland Inc.



Beckman Coulter Ireland Inc.
Lismeehan
O'Callaghan's Mills
Co. Clare, Ирландия 353 (0)65 683 1100
www.beckman.com

© 2020 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены

Лист регистрации изменений

Версия AB, 05.19

Изменения были внесены в:

- Добавлены новые языки.

Версия AC, 01.20

Изменения были внесены в:

- Добавлены новые языки.
- НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Версия AD, 06.2020

Изменения были внесены в:

- обновления относительно медицинских изделий для диагностики in vitro
- Добавлены новые языки.